

---

# **AFM-basierte Desorption einzelner oberflächenadsorbierter Polyelektrolyte: Kompetitive Adhäsion und Biomineralisation**

Lars Sonnenberg

---



München 2006



---

# **AFM-basierte Desorption einzelner oberflächenadsorbierter Polyelektrolyte: Kompetitive Adhäsion und Biomineralisation**

**Lars Sonnenberg**

---

Dissertation  
an der Fakultät für Physik  
der Ludwig–Maximilians–Universität  
München

vorgelegt von  
Lars Sonnenberg  
aus Osterode am Harz

München, den 22.12.2006

Erstgutachter: Prof. Dr. Hermann E. Gaub

Zweitgutachter: Prof. Dr. Roland R. Netz

Tag der mündlichen Prüfung: 06.02.2007

## Zusammenfassung

Die Adhäsion von Polymeren an festen Oberflächen ist von großem wissenschaftlichen Interesse. Ebenso bedeutend ist die Polymerhaftung aber auch für eine Vielzahl industrieller Anwendungen. Bei Klebungen beispielsweise kommt der Adhäsion von Polymeren, die zwei Oberflächen überbrücken, besonderes Interesse zu. Die außergewöhnlichen Materialeigenschaften von Biomineralien und damit verbunden ihre Bedeutung für die Entwicklung zukünftiger Werkstoffe basieren auf der Wechselwirkung von Biopolymeren mit Mineraloberflächen. Eine gezielte Materialentwicklung mit vorhersagbaren Hafteigenschaften ist derzeit jedoch wegen des eingeschränkten Wissens über die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen und Wechselwirkungen der Polymeradsorption noch nicht in zufriedenstellender Weise möglich. AFM-basierte Kraftspektroskopie ermöglicht die Untersuchung von Konformationen und Wechselwirkungen von Makromolekülen sowie die hochpräzise Bestimmung inter- und intramolekularer Kräfte. Desorptionsmessungen an einzelnen oberflächenadsorbierten Polyelektrolytketten können dabei zu einem besseren Verständnis der molekularen Wechselwirkungen beitragen. Sie ermöglichen die hochpräzise Quantifizierung der Wechselwirkungskraft zwischen Polymer und Oberfläche. Darüber hinaus bietet eine gesteuerte Veränderung der experimentellen Bedingungen und damit der Desorptionskraft Einsichten in die unterschiedlichen Wechselwirkungen.

Im Fall oberflächenüberbrückender Polymere adsorbiert die Polymerkette auf zwei Oberflächen, die sozusagen in Konkurrenz zueinander stehen, so dass kompetitive Aspekte der Adhäsion eine wichtige Rolle spielen können. Im Rahmen dieser Arbeit konnte mit AFM-Desorptionsmessungen erfolgreich veranschaulicht werden, dass die Adhäsionseigenschaften beider Oberflächen berücksichtigt werden müssen. Daraus ergibt sich zum Beispiel eine Abhängigkeit der Länge des überbrückenden Polymersegments von der Dichte der Moleküle auf der Oberfläche, da benachbarte Moleküle die Wechselwirkung des Polymers mit der Oberfläche örtlich einschränken können. Intra- und intermolekulare Wechselwirkungen können zudem zu einem konturlängenabhängigen Dissoziationsverhalten des Polymers führen, das in Unterschieden der gemessenen Desorptionskraft resultiert.

Bei Biomineralien mangelt es an Wissen über die Struktur der häufig sauren Makromoleküle und die komplexen Wechselwirkungen mit den Mineraloberflächen. An einem Modellsystem aus Polyglutaminsäure und Calcit konnte gezeigt werden, dass mit AFM-Desorptionsmessungen dieses molekulare Zusammenspiel von Wechselwirkungen auf der Basis von Wechselwirkungskräften sehr detailliert untersucht werden kann. Dies ist notwendig, da geringe Veränderungen auf der molekularen Skala große Effekte auf der makroskopischen Skala hervorrufen können. Es stellte sich außerdem heraus, dass Hochenergiekristallflächen von Calcit in guten Lösungsmitteln ohne stabilisierende Polymeradditive nicht existieren können, sondern sich in die stabile Calcit (104)-Fläche umwandeln.



# Abstract

The adhesion of polymers to solid surfaces is of great scientific interest. In addition, polymer adhesion is similarly important for a variety of industrial applications. For example, the adhesion of polymers that bridge two surfaces is of particular interest in the field of adhesives. The exceptional material properties of biominerals and with it their importance for the development of future advanced materials are based on the interaction of biopolymers with mineral surfaces. However, targeted materials design with predictable adhesive properties is currently not satisfactory due to the limited understanding of the underlying molecular properties and interactions of polymer adsorption. AFM-based force spectroscopy enables the study of conformations and interactions of macromolecules as well as determination of inter- and intra-molecular forces with high precision. Desorption measurements on single surface-adsorbed polyelectrolyte chains can thereby contribute to a better understanding of the molecular interactions. They enable the high precision quantification of the interaction force between polymer and surface. Moreover, the controlled variation of the experimental conditions, and so the desorption force, offers insights into the different interactions.

In the case of surface bridging polymers the polymer chain adsorbs onto two surfaces, which are in quasi competition with each other so that competitive aspects of adhesion may play an important role. In this thesis it was possible to successfully demonstrate using AFM desorption measurements that the adhesion properties of both surfaces have to be taken into account. As a consequence, the length of the bridging polymer segment is for example dependent on the density of molecules on the surface as adjacent molecules can locally confine the interaction of the polymer with the surface. Intra- and intermolecular interactions can furthermore lead to a contour length dependent dissociation behavior of the polymer, which results in differences in the measured desorption force.

The area of biominerals is lacking knowledge about the structure of the often acidic macromolecules and their complex interactions with the mineral surfaces. As was demonstrated using a model system of poly(glutamic acid) and calcite, this molecular interplay of interactions can be investigated in detail on the basis of interaction forces with AFM desorption measurements. This is necessary because small variations on the molecular scale can have large effects on the macroscopic scale. It also turned out that high-energy crystal surfaces of calcite cannot exist in good solvents without stabilizing polymer additives, but transform into the stable calcite (104) surface.





# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Polyelektrolyte in Lösung</b>	<b>3</b>
2.1	Neutrale Polymere . . . . .	3
2.2	Polyelektrolyte . . . . .	7
<b>3</b>	<b>Polyelektrolyte an Fest-Flüssig-Grenzflächen</b>	<b>11</b>
3.1	Polyelektrolyt-Substrat-Wechselwirkungen . . . . .	11
3.2	Adsorption an der Fest-Flüssig-Grenzfläche . . . . .	13
<b>4</b>	<b>AFM-basierte Desorption oberflächenadsorbierter Polyelektrolyte</b>	<b>17</b>
4.1	AFM-basierte Einzelmolekülkraftspektroskopie . . . . .	17
4.2	Desorptionsmessungen . . . . .	19
<b>5</b>	<b>Desorptionsmessungen an gepfropften Polyacrylsäure-Monolagen</b>	<b>23</b>
5.1	Experimenteller Teil . . . . .	23
5.2	Ergebnisse . . . . .	26
<b>6</b>	<b>Kompetitive Adhäsion überbrückender Polymere</b>	<b>28</b>
6.1	Modell zur differentiellen Adhäsion . . . . .	28
6.2	Ergebnisse . . . . .	29
<b>7</b>	<b>Polypeptid-Mineral-Wechselwirkungen</b>	<b>31</b>
7.1	Experimenteller Teil . . . . .	31
7.2	Ergebnisse . . . . .	33
<b>A</b>	<b>Competitive Adhesion of Single Polymer Chains Bridging two Surfaces</b>	<b>43</b>
<b>B</b>	<b>Choose Sides: Differential Polymer Adhesion</b>	<b>51</b>
<b>C</b>	<b>AFM-Based Single Molecule Force Spectroscopy of End-Grafted Poly(acrylic acid) Monolayers</b>	<b>67</b>
<b>D</b>	<b>Quantitative Single Molecule Measurements on the Interaction Forces of Poly(L-Glutamic Acid) with Calcite Crystals</b>	<b>85</b>
<b>E</b>	<b>Novel Method for Generation of Additive-Free High Energy Crystal Faces and their Reconstruction in Solution</b>	<b>107</b>



# 1 Einleitung

Polymere nehmen eine zentrale Stellung in vielen Bereichen des alltäglichen Lebens ein.<sup>1</sup> Eine entscheidende Bedeutung kommt bei vielen Anwendungen der Polymerhaftung, d.h. der Adhäsion von Makromolekülen an Oberflächen oder Polymerschichten, zu. Dabei sind geladene Polymere, Polyelektrolyte, besonders interessant, da deren Wasserlöslichkeit zum einen ökologische und ökonomische Vorteile mit sich bringt und zum anderen Ladungswechselwirkungen bei der Haftung genutzt werden können. Eine Materialentwicklung mit gezielten Hafteigenschaften ist jedoch wegen des mangelnden Wissens über die molekularen Mechanismen und Wechselwirkungen der Polymeradhäsion derzeit noch nicht in zufriedenstellender Weise möglich. Bei der Verwendung von Polyelektrolyten kommt zudem noch hinzu, dass komplexe Ladungsregulierungsmechanismen auftreten.<sup>2</sup>

Einzelmolekülkraftspektroskopie mit einem Rasterkraftmikroskop (AFM) ermöglicht die Bestimmung der Konformation und Wechselwirkungen von Makromolekülen in Lösung. Insbesondere können inter- und intramolekulare Kräfte mit hoher Präzision gemessen werden.<sup>3,4</sup> Bei Desorptionsmessungen wird die Adsorptionskraft einer einzelnen Polyelektrolytkette auf einer festen Unterlage bestimmt. Indem einzelne Moleküle kovalent an die Spitze einer AFM-Tastfeder gebunden werden, kann die Adsorptionskraft nicht nur in Abhängigkeit von den experimentellen Bedingungen wie pH-Wert oder Salzgehalt der wässrigen Lösung, sondern auch auf verschiedenen Oberflächen bestimmt werden. Es konnte gezeigt werden, dass sich die gemessene Desorptionskraft aus einem ladungsabhängigen und einem ladungsunabhängigen Beitrag zusammensetzt. Der Coulomb-Beitrag ist dabei in Debye-Hückel-Näherung proportional zur Debye-Abschirmlänge und der Linienladungsdichte des Polymers.<sup>5,6</sup> Zum besseren Verständnis des ladungsunabhängigen Beitrags, der selbst bei hochgeladenen Oberflächen eine bedeutende Rolle spielt, wurde die Desorptionskraft in Abhängigkeit von der Hydrophobizität der Kopfgruppen selbstorganisierender Monolagen näher betrachtet.<sup>7</sup> Bei der theoretischen Beschreibung der Polyelektrolytadsorption auf geladenen Oberflächen müssen komplexe Ladungsregulierungsmechanismen berücksichtigt werden.<sup>8</sup> Mit Desorptionsmessungen können also unterschiedliche Kraftbeiträge bei der Adsorption aufgelöst und somit Einblicke in die molekularen Wechselwirkungen der Polyelektrolytadsorption gewonnen werden.

Die bisherigen Desorptionsstudien analysierten die Adsorptionskraft, die ausschließlich durch die Wechselwirkung der Polyelektrolytkette mit der Oberfläche bestimmt ist. Die Tatsache, dass das Molekül ebenfalls mit der Oberfläche der AFM-Spitze, an der es kovalent gebunden ist, wechselwirken kann, blieb dabei unberücksichtigt. In diesem Fall konkurrieren die beiden Oberflächen um die Adhäsion des Polymers, so dass kompetitive Aspekte der Adhäsion eine wichtige Rolle spielen könnten. In den Kraft-Abstands-Kurven würden sich solche Effekte auf die gemessene (scheinbare) Polymerlänge auswirken, nicht aber auf die gemessene Desorptionskraft. Für Desorptionsmessungen sind in diesem Fall oberflächenverankerte gepfropfte Polymermonolagen überaus interessant, da

diese mit definierter molekularer Architektur hergestellt werden können. Die mit AFM-Desorptionsexperimenten ermittelten Polymerlängen können also direkt mit der bekannten molekularen Längenverteilung der Monolage verglichen werden.

In praktischen Anwendungen sind die Adhäsionseigenschaften überbrückender Polymere vor allem bei Klebungen und kolloidalen Lösungen von Bedeutung. Hierbei vermitteln überbrückende Polymere die Haftung zwischen den Oberflächen oder stabilisieren kolloidale Partikel gegen Flockung. Bei einer Vielzahl materialwissenschaftlicher oder biophysikalischer Fragestellungen, die Polymerhaftung betreffen, steht jedoch die Wechselwirkung der Polymere mit nur einer Oberfläche im Mittelpunkt. Ein solches Beispiel sind Biomineralien, denen die spezifischen Wechselwirkungen von biologischen Molekülen und anorganischen Mineralkristallen aussergewöhnliche Materialeigenschaften verleihen.<sup>9</sup> Aufgrund ihrer überlegenen Materialeigenschaften werden Biomineralien als Archetyp zukünftiger Materialien betrachtet. Ein Paradebeispiel sind Muschelschalen für die Entwicklung von Beton, da Muschelschalen extrem bruchfest sind und sich Risse nur schwer ausbreiten können.

Nach einer Einführung in die wichtigsten Polymer- und insbesondere Polyelektrolyteigenschaften in Kapitel 2 werden grundlegende Aspekte der Polyelektrolytadsorption an Oberflächen in Kapitel 3 betrachtet. Kapitel 4 gibt einen Überblick über Kraftspektroskopie auf Einzelmolekülebene in Hinblick auf AFM-basierte Desorptionsmessungen. Die Ergebnisse bei Anwendung dieser Technik auf oberflächenverankerte gepfropfte Polyelektrolyt-Monolagen werden in Kapitel 5 dargestellt. Darauf basierend wurden kompetitive Aspekte der Polyelektrolytadhäsion betrachtet, deren Resultate in Kapitel 6 zusammengefaßt werden. Kapitel 7 zeigt die Ergebnisse der Untersuchungen von Polypeptid-Mineral-Wechselwirkungen mittels Desorptionsmessungen. Die zugehörigen Publikationen finden sich im Anhang A bis E.

## 2 Polyelektrolyte in Lösung

Polymere sind Makromoleküle, die aus kovalent verbundenen Einheiten, den Monomeren, bestehen.<sup>10</sup> Diese monomeren Grundbausteine können dabei linear in Form einer Kette angeordnet sein oder verzweigte Formen wie Dendrimere oder Sterne bilden. Synthetisch hergestellte Polymere sind darüber hinaus vorwiegend Homopolymere, beinhalten also im Gegensatz zu den biologisch häufigen Heteropolymeren nur eine einzige Monomerart. Das Aneinanderfügen solcher Homopolymere bezeichnet ein Blockcopolymer, wobei durch Kombination eines hydrophoben und eines hydrophilen Blocks in wässrigen Lösungen Mesostrukturen wie Mizellen oder Lamellen geformt werden können.

Die bekanntesten Beispiele synthetischer Polymere sind vermutlich Polyethylen (PE), Polypropylen (PP) und Polyvinylchlorid (PVC), während für Biopolymere diesbezüglich Desoxyribonucleinsäure (DNA), Proteine oder Polysaccharide zu nennen sind.

Polymere sind von fundamentaler Bedeutung, sowohl für biologische Prozesse als auch für eine Vielzahl industrieller Anwendungen.<sup>11</sup> Besonderes Augenmerk liegt bei letzteren auf geladenen Polymeren, den Polyelektrolyten, die aufgrund ihrer Wasserlöslichkeit aus ökonomischen und ökologischen Gründen Vorteile bieten.

### 2.1 Neutrale Polymere

Neutrale Polymere tragen keinerlei Ladungen an den Monomereinheiten. Die aufgrund nicht vorhandener langreichweitiger Coulomb-Wechselwirkungen resultierende einheitliche Längenskala der dominierenden Wechselwirkungen erlaubt eine umfassende Beschreibung ungeladener Makromoleküle mittels statistischer Physik. Darauf wiederum gründet entscheidend das heutige gute Verständnis neutraler Polymere.<sup>12–18</sup>

Polyethylen  $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-)_n$  sowie zahlreiche andere ungeladene Polymere sind in vielen organischen Lösungsmitteln, z.B. Toluol, löslich, in Wasser jedoch unlöslich. Die Wasserlöslichkeit kann unter anderem durch Einfügen ausgeprägter dipolarer Gruppen, die kompatibel zu der starken Polarisierbarkeit von Wasser sind, erreicht werden, wie im Fall von Polyethylenoxid (PEO)<sup>A</sup>  $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-)_n$ .

#### 2.1.1 Ideale Ketten

Als ideale Ketten werden lineare Polymere bezeichnet, bei denen die Wechselwirkungen zwischen den Monomeren vernachlässigt werden können. Infolgedessen sind die Ketten unter anderem gänzlich flexibel auf der Längenskala eines Monomers, so dass bei deren physikalischer Beschreibung zu Translations- und Rotationsfreiheitsgraden eine Vielzahl

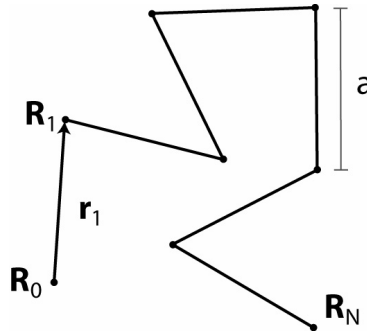
---

<sup>A</sup>Basiert die Herstellung auf Ethylenglycolmonomeren anstatt auf Ethylenoxidmonomeren wird Polyethylenglycol (PEG) als Bezeichnung verwendet. PEO und PEG unterscheiden sich allerdings nur hinsichtlich der Endgruppen. Monodisperse PEO/PEG-Polymere mit Molekulargewichten über ca. 40000 g/mol sind PEO-Polymere.<sup>19</sup>

von Konformationsfreiheitsgraden hinzutreten.

Eine Polymerkette des Polymerisationsgrads  $N$  setzt sich dabei vereinfacht aus  $N$  frei beweglichen Einheiten der Länge  $a$  zusammen, deren räumliche Ausrichtungen unabhängig voneinander sind (s. Abb. 1). Zur vollständigen Beschreibung der Konformation ist ein Satz von  $(N + 1)$  Ortsvektoren  $\{\mathbf{R}_i\} = (\mathbf{R}_0, \dots, \mathbf{R}_N)$ , respektive  $N$  Bindungsvektoren  $\{\mathbf{r}_i\} = (\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N)$  hinreichend, für die der Zusammenhang besteht:

$$\mathbf{r}_i = \mathbf{R}_i - \mathbf{R}_{i-1}, \quad i = 1, 2, \dots, N. \quad (1)$$



**Abbildung 1.** Schematische Darstellung einer idealen Polymerkette bestehend aus  $(N+1)$  Ortsvektoren  $\mathbf{R}_i$  und entsprechend  $N$  Bindungsvektoren  $\mathbf{r}_i$  der Monomerlänge  $a$ .

Die Definition des End-zu-End-Vektors  $\mathbf{R}$  folgt damit intuitiv,

$$\mathbf{R} \equiv \mathbf{R}_N - \mathbf{R}_0 = \sum_{i=1}^N \mathbf{r}_i. \quad (2)$$

Die Wahrscheinlichkeitsverteilung des End-zu-End-Vektors  $\Phi$  entspricht einer Gaussverteilung,

$$\Phi(\mathbf{R}, N) \simeq \left( \frac{3}{2\pi N a^2} \right)^{\frac{3}{2}} \exp \left( -\frac{3\mathbf{R}^2}{2N a^2} \right), \quad (3)$$

ergo den Ergebnissen der Zufallsbewegung (*random walk*). Der gemittelte End-zu-End-Vektor  $\langle \mathbf{R} \rangle$  kann wegen der fehlenden Vorzugsrichtung der Monomere, d.h.  $\langle \mathbf{R} \rangle = 0$ , nicht zur Charakterisierung der Polymergröße herangezogen werden. Der End-zu-End-Abstand  $R$  als charakteristische Eigenschaft der Polymerausdehnung und -konformation wird vielmehr an Hand des gemittelten quadratischen End-zu-End-Vektors  $\langle \mathbf{R}^2 \rangle$  definiert,

$$R^2 \equiv \langle \mathbf{R}^2 \rangle = \sum_{i=1}^N \langle \mathbf{r}_i^2 \rangle + 2 \sum_{i>j} \langle \mathbf{r}_i \cdot \mathbf{r}_j \rangle = N a^2. \quad (4)$$

Dabei ergibt sich  $\langle \mathbf{r}_i \cdot \mathbf{r}_j \rangle = 0$  für  $i \neq j$  bei thermischer Mittelung wiederum aus der ausbleibenden Korrelation zweier willkürlicher Bindungsvektoren, so dass sich die Formel auf die Terme mit  $\langle \mathbf{r}_i^2 \rangle = a^2$  reduziert.

### 2.1.2 Reale Ketten

Die aufgeführten Eigenschaften idealer Ketten gelten für reale Ketten nur eingeschränkt, insbesondere wegen der Vernachlässigung kurzreichweitiger Wechselwirkungen innerhalb der Kette. Das einfachste realitätsnähere Modell ist das Modell der freiverbundenen Kette (*freely jointed chain*, FJC), bei dem Abweichungen vom idealen Verhalten durch eine Anpassung der effektiven Monomerlänge ausgeglichen werden. Anstelle der strukturell definierten Monomerlänge  $a$  im Modell idealer Ketten tritt hier der variable Parameter der Kuhn-Länge  $a_K$ , so dass alle aus dem End-zu-End-Vektor abgeleiteten Relationen ihre Gültigkeit behalten. Die Notwendigkeit dieser Abstimmung rührt wesentlich von einer finiten Steifheit der Kette sowie eingeschränkten Konformationsfreiheitsgraden her.

**Ausgeschlossenes Volumen** Neben den kurzreichweitigen Wechselwirkungen entlang der Polymerkette müssen auch Volumenwechselwirkungen bedacht werden, da in geknäuelten Molekülkonformationen auch nicht unmittelbar benachbarte Monomere in Wechselwirkung zueinander treten können. Die naheliegendste Konsequenz ist eine sterische Abstoßung, da dasselbe Volumenelement nicht von mehreren Monomeren eingenommen werden kann. Dieses für die Kette quasi ausgeschlossene Volumen kann in Analogie zur Zufallsbewegung als eine selbstvermeidende Bewegung (*self-avoiding walk*) gesehen werden, die die statistischen Eigenschaften des Moleküls nachhaltig beeinflusst. Die Abhängigkeit des End-zu-End-Abstands  $R$  vom Polymerisationsgrad  $N$  beispielsweise geht in

$$R \simeq N^\nu \quad \nu \approx 3/5 \quad (5)$$

über. Bei detaillierterer Betrachtung des ausgeschlossenen Volumens müssen zusätzlich zu der sterischen Abstoßung noch van-der-Waals-Wechselwirkungen und durch das Lösungsmittel vermittelte Wechselwirkungen einbezogen werden.

**Lösungsmittelqualität** Die Konformation von Polymeren in Flüssigkeit ist entscheidend von der Qualität des Lösungsmittels geprägt, die angibt, in welchem Verhältnis die Wechselwirkungen der Monomere untereinander zu den Wechselwirkungen der Monomere mit dem Lösungsmittel stehen.

In guten Lösungsmitteln dominiert die Wechselwirkung der Monomere mit dem Lösungsmittel. Die hierbei als repulsiv anzusehende effektive Monomer-Monomer-Wechselwirkung bewirkt aufgrund des ausgeschlossenen Volumens im Vergleich zur Größe idealer Ketten ein Anschwellen des Polymerknäuels,

$$R \simeq aN^\nu \quad \nu = 3/5. \quad (6)$$

In schlechten Lösungsmitteln übersteigt die Monomer-Monomer-Wechselwirkung die der Monomere mit dem Lösungsmittel. Die anziehende effektive Wechselwirkung zwischen den

Segmenten führt zum Kollabieren der Kette und damit zur Anordnung in einem dichten Kügelchen (*polymer globule*),

$$R \simeq aN^\nu \quad \nu = 1/5. \quad (7)$$

Theta-Lösungsmittel bezeichnen den Bereich zwischen gutem und schlechtem Lösungsmittel. Die Wechselwirkungen der Momomere untereinander sowie mit dem Lösungsmittel sind demnach von vergleichbarer Stärke und der sich in diesem Fall ergebende End-zu-End-Abstand entspricht nahezu dem idealer Polymerketten,

$$R \simeq aN^\nu \quad \nu = 1/2. \quad (8)$$

**Kettensteifigkeit** Die Konformation eines Polymers und dessen Adsorptionsverhalten an festen Oberflächen sind maßgeblich von der Steifheit des Moleküls abhängig. Während viele Biopolymere auf der Nanometerskala als steif und auf größeren Längenskalen als semiflexibel angesehen werden können, sind synthetische Polymere meist durchweg als flexibel einzustufen.

Die Biegesteifigkeit von Polymeren wird am einfachsten mit einem Kontinuumsmodell beschrieben, wobei vorwiegend das Modell der wurmartigen Kette (*worm-like chain*, WLC), auch bekannt als Kratky-Porod-Modell<sup>20</sup> angewandt wird. Die Steifigkeit wird darin durch die Persistenzlänge  $l_0$  als die Länge, über die die Bindungsvektoren  $\mathbf{r}$  entlang der Kette korreliert sind, beschrieben. Die Energie  $E_B$ , die mit der Verbiegung einer Polymerkette der Konturlänge  $l_c$ , die durch die Raumkurve  $\mathbf{r}(s)$  parametrisiert wird, assoziiert ist, schreibt sich damit als

$$\frac{E_B}{k_B T} = \frac{l_0}{2} \int_0^{l_c} ds \left( \frac{d^2 \mathbf{r}(s)}{ds^2} \right)^2. \quad (9)$$

Das Konzept der Persistenzlänge, die laut Definition eine Abschätzung über den Krümmungsradius der Kette unter Berücksichtigung thermischer Fluktuationen gibt, findet mehrheitlich Anwendung bei steifen und semiflexiblen Polymeren. Flexible Polymere werden hingegen häufig mit der Kuhn-Länge  $a_K$  und dem FJC-Modell beschrieben. Zwischen den Parametern der beiden Modelle besteht der Zusammenhang  $l_0 = a_K/2$ , sofern die Konturlänge die Persistenzlänge deutlich übertrifft ( $l_c \gg l_0$ ).

Lineare Polymerketten wie die synthetische Polyacrylsäure (PAA) oder einzelsträngige DNA (ssDNA) sind in der Regel sehr flexibel. Doppelsträngige DNA (dsDNA) ist im Vergleich dazu aufgrund der Doppelhelixstruktur deutlich versteift. Biopolymere, die in der Zelle hohen mechanischen Belastungen standhalten müssen, sind deutlich steifer und werden durch Polymerisation von Proteinen gebildet. Zwei Ketten aus Aktin formen zum Beispiel durch helikale Anordnung ein Aktin-Filament (F-Aktin). Die röhrenförmigen Mikrotubuli setzen sich aus parallel angeordneten Ketten von Tubulin-Dimeren, den Protofilamenten, zusammen.



Polymer	$l_0$ / nm	$a^B$ / nm	$\varnothing$ / nm	Ref.
PAA	0.32	0.25	-	21
ssDNA	1	0.57	-	22, 23
dsDNA	50	0.34	2	24
F-Aktin	$17 \cdot 10^3$	2.8	7	25
Mikrotubuli	$5 \cdot 10^6$	8	22	26

**Tabelle 1.** Persistenzlängen  $l_0$  verschiedener (Bio)Polymere sowie Abstände  $a$  benachbarter Monomere und Durchmesser  $\varnothing$  etwaiger gebildeter übergeordneter Strukturen.

## 2.2 Polyelektrolyte

Polyelektrolyte sind Polymere mit ionisierbaren Gruppen, die in polaren Lösungsmitteln wie zum Beispiel Wasser in geladene Makroionen und kleine Gegenionen dissoziieren können. Die sich daraus ergebende Aufladung des Moleküls und die Relevanz langreichweitiger Coulomb-Wechselwirkungen bei der statistischen Beschreibung tragen dazu bei, dass das Verständnis von Polyelektrolyten im Vergleich zu neutralen Polymeren noch als schlecht eingestuft werden muss.<sup>27–31</sup>

Die Auswirkungen der durch den Dissoziationsprozess hervorgerufenen Ladungswechselwirkungen hängen mit der betrachteten Längenskala zusammen. Die Ladungsneutralität bleibt auf größeren Längenskalen erhalten, da das geladene Molekül von einer Gegenladungswolke, bestehend aus schwach durch Coulomb-Wechselwirkungen gebundenen Gegenionen, umgeben ist. Auf der molekularen Größenskala indessen wird das statistische Verhalten maßgeblich durch Coulomb-Abstoßung innerhalb der Kette beeinflusst, so dass Polyelektrolyte im Gegensatz zu neutralen Polymeren eine gestrecktere bzw. geschwollene Konformation einnehmen.

Polyelektrolyte werden bezüglich ihres Dissoziationsgrads untergliedert. In wässrigen Lösungen ist das Dissoziationsgleichgewicht schwacher Polyelektrolyte (*annealed polyelectrolytes*) vom pH-Wert der Lösung abhängig, das starker Polyelektrolyte (*quenched polyelectrolytes*) unabhängig. Moleküle mit Carboxylgruppen ( $\text{COOH} \leftrightarrow \text{COO}^-$ ) oder Aminogruppen ( $\text{NH}_2 \leftrightarrow \text{NH}_3^+$ ) sind den schwachen Polyelektrolyten zugehörig, solche mit Sulfonsäuregruppen ( $\text{SO}_3^-$ ) oder quartären Ammoniumgruppen ( $\text{NH}_4^+$ ) sind Beispiele starker Polyelektrolyte.

Die geladenen Seitengruppen der Polyelektrolyte bewirken zudem wegen des Gewinns an Bewegungsentropie der Gegenionen die Wasserlöslichkeit der meisten Polyelektrolyte, selbst wenn deren Polymerrückgrat von schlecht löslichen Kohlenstoffgruppen gebildet wird. Im Fall schwacher Polyelektrolyte kann also die Lösungsmittelqualität durch Ände-

<sup>Ba</sup> gibt den Abstand benachbarter Monomere entlang der Struktur an. Bei der dsDNA wird eine vollständige Drehung der Doppelhelix nach 3.6 nm erreicht, wozu 10.5 Monomere benötigt werden. Für F-Aktin beträgt die Wiederhollänge etwa 36 nm bei 13 Monomeren, für Mikrotubuli entspricht sie mit 8 nm der Länge eines Tubulin-Dimers.

lung des Dissoziationsgrads, d.h. des pH-Werts der Lösung, manipuliert werden.

### 2.2.1 Abgeschirmte elektrostatische Wechselwirkungen

Coulomb-Wechselwirkungen zwischen den Ladungen der Polyelektrolytkette sowie bei der Adsorption mit den Oberflächenladungen sind maßgebend für das physikalische Verhalten des Polymers. In salzhaltigen wässrigen Lösungen sind allerdings eine Vielzahl geladener Ionen vorhanden, die ihrerseits mit den Polyelektrolytladungen wechselwirken können. Daher darf der Einfluss der Ionen des Lösungsmittels nicht vernachlässigt werden und muss in die Beschreibung der Ladungswechselwirkungen einbezogen werden.

Das elektrostatische Potential  $\phi$  einer Ladungsverteilung  $\rho$  ist allgemeingültig durch die Poisson-Gleichung

$$\Delta\phi(\mathbf{r}) = -\frac{\rho(\mathbf{r})}{\varepsilon_0\varepsilon} \quad (10)$$

bestimmt, wobei  $\varepsilon_0$  die Dielektrizitätskonstante des Vakuums darstellt und ein homogen dielektrisches Medium, d.h.  $\varepsilon(\mathbf{r}) = \varepsilon = \text{const.}$  angenommen wurde.<sup>C</sup>

Um den Einfluß der Ionen des Lösungsmittels auf eine Einheitsladung  $e$  (des Polymers) zu untersuchen, sei als Ladungsverteilung eine Lösung aus  $i$  Ionensorten der Valenz  $z_i$  und lokalen Konzentrationen  $c_i(\mathbf{r})$  angenommen, also

$$\rho(\mathbf{r}) = e \cdot c(\mathbf{r}) = e \cdot \sum_i z_i c_i(\mathbf{r}). \quad (11)$$

In einer *mean-field* Beschreibung, d.h. unter Vernachlässigung lokaler Fluktuationen, unterliegen die lokalen Konzentrationen einem Boltzmann-Verhalten,

$$c_i(\mathbf{r}) = c_i \cdot \exp\left(-\frac{z_i e \cdot \phi(\mathbf{r})}{k_B T}\right), \quad (12)$$

wobei  $c_i$  der Ionenkonzentration im Volumen entspricht und  $k_B T$  die thermische Energie bezeichnet. Damit kann die Poisson-Gleichung (10) durch Einsetzen unmittelbar in die Poisson-Boltzmann-Gleichung

$$\Delta\phi(\mathbf{r}) = -\frac{e}{\varepsilon_0\varepsilon} \sum_i z_i c_i \cdot \exp\left(-\frac{z_i e \cdot \phi(\mathbf{r})}{k_B T}\right), \quad (13)$$

überführt werden. Nunmehr werden Näherungen notwendig, da die Poisson-Boltzmann-Gleichung nicht explizit lösbar ist. Bei dem für schwache Potentiale ( $ze \cdot \phi(\mathbf{r}) \ll k_B T$ ) gültigen Ansatz von Debye und Hückel<sup>33</sup> wird die Poisson-Boltzmann-Gleichung linearisiert, d.h. in Reihenentwicklung bis 1. Ordnung und unter Berücksichtigung der Ladungsneutralität  $\sum_i c_i z_i e = 0$  zur Debye-Hückel-Gleichung

---

<sup>C</sup>Für Wasser beträgt die Dielektrizitätskonstante  $\varepsilon \approx 80$ . An Grenzflächen zeigt Wasser allerdings eine zum Volumen veränderte Struktur,<sup>32</sup> so dass direkt an der Grenzfläche auch die dielektrischen Eigenschaften verändert sein können.

$$\Delta\phi(\mathbf{r}) = \kappa^2\phi(\mathbf{r}) \quad (14)$$

mit der sogenannten Debye-Abschirmlänge  $\kappa^{-1}$ ,

$$\kappa^{-1} = \sqrt{\frac{10^{-3}\varepsilon_0\varepsilon k_B T}{N_A e^2 \sum_i z_i^2 c_i}} = \sqrt{\frac{10^{-3}}{4\pi l_B N_A \sum_i z_i^2 c_i}} \approx 0.43 \cdot \sqrt{\frac{1}{\sum_i z_i^2 c_i}} \text{ nm}. \quad (15)$$

Die Bjerrum-Länge  $l_B$  definiert die Längenskala, auf der die Energie aufgrund der Coulomb-Wechselwirkung zweier Ladungen der thermischen Energie gleicht,<sup>D</sup>

$$l_B = \frac{e^2}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon k_B T}. \quad (16)$$

Als Lösung der Debye-Hückel-Gleichung (14) für zwei Einheitsladungen unter der Annahme eines kugelsymmetrischen Potentials ergibt sich das Debye-Hückel-Potential  $V_{DH}$

$$\frac{V_{DH}(r)}{k_B T} = \frac{l_B}{r} \cdot e^{-\kappa r}, \quad (17)$$

welches im Vergleich zum Coulomb-Potential zusätzlich exponentiell abfällt. Die Coulomb-Wechselwirkungen werden also von den Ionen der Lösung derart abgeschirmt, dass deren Reichweite der Debye-Abschirmlänge entspricht.<sup>E</sup>

### 2.2.2 Dissoziationsgrad

Der Dissoziationsgrad  $\alpha$  eines geladenen Polymers, d.h. das Verhältnis von dissoziierten ionischen Gruppen zur Gesamtzahl ist bei schwachen Polyelektrolyten vom pH-Wert der Lösung abhängig und unterliegt zusätzlich wegen ständiger Dissoziation und Rekombination zeitlichen und örtlichen Fluktuationen.<sup>34</sup> In guten und Theta-Lösungsmitteln kommt es zudem zu einer Ladungsakkumulation an den Kettenenden, da dort nur eine reduzierte Anzahl an Nachbarn mit den Ladungen wechselwirken kann.

Die Ladungen der Polyelektrolyte Polyacrylsäure und Polyglutaminsäure rühren von der Deprotonierung bzw. Protonierung der Carboxylgruppen der Seitenketten her,



Die Gleichgewichtskonstante der Reaktion  $K_a$  bestimmt sich aus den Konzentrationen  $c$  der entsprechenden Stoffmengen gemäß des Massenwirkungsgesetzes,

$$K_a = \frac{c(\text{H}^+) \cdot c(\text{COO}^-)}{c(\text{COOH})}, \quad (19)$$

und wird experimentell häufig mit Säure-Base-Titrationen gemessen. Auf diese Weise ermittelte Werte liegen für Carboxylgruppen in Seitenketten<sup>35</sup> bei  $\text{p}K_a = -\log K_a = 4.6$

<sup>D</sup>Die Bjerrum-Länge beträgt in Wasser etwa 0.7 nm.

<sup>E</sup>Die Debye-Abschirmlänge beträgt unter physiologischen Bedingungen etwa 1 nm.

und für Acrylsäure<sup>36</sup> ungefähr bei  $pK_a = 4.2$ . Aus dem Massenwirkungsgesetz ergibt sich darüber hinaus unmittelbar

$$pH = pK_a + \log_{10} \left( \frac{\alpha}{1 - \alpha} \right) \quad (20)$$

sowie für den Dissoziationsgrad

$$\alpha = 1 / (1 + 10^{pK_a - pH}) . \quad (21)$$

Das Dissoziationsverhalten einer schwachen Polyelektrolytkette wird indes mit einer anscheinenden Dissoziationskonstante  $K_{a,app}$  beschrieben, da repulsive elektrostatische Wechselwirkungen entlang der Kette der Dissoziation entgegenwirken. Insbesondere wird der Prozess von der Stärke der elektrostatischen Abschirmung beeinflusst, also von der Salzkonzentration der Lösung. Für Polyacrylsäure ändert sich beispielsweise  $pK_{a,app}$  zwischen 6.8 (ohne Salz) und 4.7 (bei 1 M NaCl).<sup>37</sup> Zu bemerken ist außerdem, dass der Dissoziationsgrad vom lokalen elektrostatischen Potential abhängig ist, so dass dies besonders bei der Adsorption von Polyelektrolyten an stark geladenen Unterlagen, an denen sich das lokale elektrostatische Potential deutlich von dem im Volumen unterscheiden kann, auswirkt. Thermodynamisch bedarf es zum Entfernen eines weiteren Protons bei gegebenem Dissoziationsgrad zusätzlicher elektrostatischer Freier Energie  $\Delta G_{el}$ ,

$$pK_{a,app} = pK_a + \frac{\Delta G_{el}}{2.303k_B T} . \quad (22)$$

Ein *mean-field* Ansatz, bei dem die Debye-Hückel-Theorie für Ladungswechselwirkungen angewandt wurde,<sup>2</sup> führt zu der Beziehung

$$2.303(pH - pK_a) + l_B \kappa = \ln \left( \frac{\alpha}{1 - \alpha} \right) + \Delta \cdot \alpha \quad (23)$$

für ein gerades, d.h. steifes oder stark adsorbiertes Polymer der Monomerlänge  $a$ . Die Ladungsabstoßung benachbarter Monomere geht durch  $\Delta = -2l_B/a \cdot \ln(1 - e^{-\kappa a})$  ein. Im Bereich hoher Salzkonzentrationen ( $\kappa d \gg 1$  bzw.  $\Delta = 0$ ) ergibt sich ein Dissoziationsverhalten analog zu (20), ansonsten ist die Dissoziation merklich abgeschwächt.

### 3 Polyelektrolyte an Fest-Flüssig-Grenzflächen

Die Adsorptionseigenschaften von Polymeren auf festen Substraten werden von den Oberflächeneigenschaften, internen Freiheitsgraden des Moleküls sowie etwaigen Ladungswechselwirkungen bestimmt.<sup>38–41</sup> Für ein Polymer in Lösung ist die Adsorption an einer Oberfläche immer dann bevorzugt, wenn die Wechselwirkungsenergie der Monomere mit der Oberfläche diejenige mit dem Lösungsmittel plus eventueller Entropieverluste aufgrund eingeschränkter Konformationsfreiheitsgrade übertrifft.

Deutlich komplexer als bei neutralen Polymeren sind die Mechanismen bei der Adsorption von Polyelektrolyten an geladenen Oberflächen, da hierbei der Dissoziationsgrad der ionischen Gruppen, die Lösungsmittelqualität, die Dielektrizitätskonstanten von Lösung und Substrat sowie die Salzkonzentration der Lösung für die ladungsabhängigen Polyelektrolyt-Substrat-Wechselwirkungen eine Rolle spielen.

#### 3.1 Polyelektrolyt-Substrat-Wechselwirkungen

Die der Adsorption von Polyelektrolytketten an geladenen hydrophilen Oberflächen zugrundeliegenden Wechselwirkungen können in einen ladungsabhängigen, von abgeschirmten Coulomb-Wechselwirkungen bestimmten und einen ladungsunabhängigen Anteil, der von van-der-Waals-Wechselwirkungen dominiert wird, unterteilt werden.

##### 3.1.1 Van-der-Waals-Wechselwirkungen

Van-der-Waals-Kräfte gehen aus sehr kurzreichweitigen Dipolwechselwirkungen hervor, die auf der Skala bis zu einigen Nanometern umgekehrt proportional zur sechsten Potenz des Abstands  $r$  zwischen den Atomen bzw. Molekülen sind,

$$F_{vdW} \sim 1/r^6. \quad (24)$$

Drei Beiträge können dabei unterschieden werden, nämlich erstens die Orientierungs- bzw. Keesom-Kraft zwischen zwei permanenten Dipolen, zweitens die Induktions- bzw. Debye-Kraft zwischen einem permanenten und einem induzierten Dipol und drittens die Dispersions- bzw. London-Kraft zwischen zwei induzierten Dipolen. Die universell vorhandene Dispersionskraft ist der dabei dominierende Beitrag; deren Stärke ist in Flüssigkeit allerdings deutlich herabgesetzt und kann sowohl attraktiv als auch repulsiv sein. Bei detaillierter Betrachtung sind insbesondere in Flüssigkeiten Retardierungseffekte der Dispersionskraft bei größeren Separierungen zu beachten, die in dem Bereich eine Abstandsabhängigkeit von  $r^{-7}$  verursachen.

Die Stärke der van-der-Waals-Kraft ist proportional zu einer materialspezifischen Konstante, der Hamaker-Konstante, deren Wert für Gold ( $25 \cdot 10^{-20}$  J)<sup>42</sup> den für Siliciumnitrid ( $5 \cdot 10^{-20}$  J)<sup>43</sup> in Wasser um das fünffache übertrifft.

### 3.1.2 Coulomb-Wechselwirkungen

Zur Betrachtung der Ladungswechselwirkungen sei angenommen, dass eine Polyelektrolytkette der Linienladungsdichte  $\tau$  in Interaktion mit einer planaren geladenen Oberfläche der Oberflächenladungsdichte  $\sigma$  tritt.<sup>F</sup> Das elektrostatische Potential der Oberfläche in einer Elektrolytlösung  $V_S^{el}$  ist in Debye-Hückel-Näherung gegeben als

$$\frac{V_S^{el}(z)}{k_B T} = 4\pi l_B \sigma \kappa^{-1} e^{-\kappa z} \quad (25)$$

für  $\sigma < (4\pi l_B \kappa^{-1})^{-1}$ .<sup>44,45</sup> Die mittlere elektrostatische Adsorptionskraft kann experimentell bestimmt werden, indem das sukzessive Herunterziehen der Kette von der Oberfläche betrachtet wird. Sofern dabei weder stabile kovalente Bindungen zerrissen werden noch andere stark bindende Wechselwirkungen gelöst werden müssen, wird lediglich eine Reihe von Ladungen gegen das exponentielle Potential bewegt. Die elektrostatische Adsorptions- bzw. Desorptionskraft berechnet sich folglich durch Integrieren der konservativen elektrostatischen Kraft  $F_{el}(z) = dV_{el}/dz$  über die gesamte Kette,

$$F_{el} = \mp \int_0^\infty \tau \cdot F_S^{el}(z) dz = \pm (4\pi l_B k_B T) \cdot \sigma \cdot \tau \cdot \kappa^{-1} \quad (26)$$

wobei dieser Ausdruck auf den Fall beschränkt ist, dass das Polymer in einer Dicke kleiner als die Debye-Abschirmlänge adsorbiert ist.<sup>4</sup> In Gleichung (26) für die mittlere elektrostatische Adsorptionskraft werden keine Effekte, die von Lösungsmittelqualität oder Ladungsregulierung herrühren, berücksichtigt. Ebenso werden nichtlineare Effekte aufgrund von Gegenionenkondensation auf dem Polyelektrolyten (Manning-Theorie) oder auf dem Substrat (Gouy-Chapman-Theorie) vernachlässigt.

Bei Polyelektrolyten ist das Dissoziationsgleichgewicht, verursacht von der elektrostatischen Abstoßung benachbarter Monomere, von einer ganzen Reihe von Parametern abhängig (siehe 2.2.2) und ändert sich insbesondere bei der Adsorption.<sup>46,47</sup> An dielektrischen Grenzen sind solche Ladungsregulierungsmechanismen mitunter noch ausgeprägter, da die Ladungen des Polymers zusätzlich mit ihren Spiegelladungen sowie den Spiegelladungen benachbarter Monomere wechselwirken.

Sofern die Dielektrizitätskonstante des adsorbierenden Substrats größer als die der Lösung ist, haben Spiegelladung und Testladung entgegengesetzte Valenzen. Mit anderen Worten erhöht/erniedrigt eine Oberfläche großer/kleiner Dielektrizitätskonstanten den Dissoziationsgrad der adsorbierten Kette. Bei der Adsorption auf Metallen ( $\varepsilon \rightarrow \infty$ ) werden sogar schwach geladene Polyelektrolyte vollständig dissoziiert, so dass die daraus hervorgehende elektrostatische Anziehung besonders ausgeprägt ist.

---

<sup>F</sup>Die Linienladungsdichte oder lineare Ladungsdichte einer Polyelektrolytkette bezeichnet das Inverse des Abstands zweier Ladungen entlang der Kette. Ein negatives Vorzeichen für  $\tau$  bedeutet, dass die Ladung des Polymers ein entgegengesetztes Vorzeichen zu dem der Oberfläche besitzt, die Coulomb-Wechselwirkung also attraktiv ist.

Material/Medium	$\varepsilon$	Ref.
Metall	$\infty$	
Wasser	80	48
Calcit	9.1	49
Siliciumnitrid	7.5	50
Vakuum	1	

**Tabelle 2.** Dielektrizitätskonstanten verschiedener Materialien/Medien.

Die dielektrische Grenze einbeziehend, kann das Debye-Hückel-Potential derart modifiziert werden, dass es für zwei Einheitsladungen an Positionen  $\mathbf{r}$  und  $\mathbf{r}'$  im Abstand  $z$  bzw.  $z'$  von der Grenzschicht gegeben ist durch<sup>51, 52</sup>

$$\frac{V_{DH}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')}{k_B T} = l_B \frac{\exp(-\kappa|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \mp l_B \frac{\exp\left(-\kappa\sqrt{(\mathbf{r} - \mathbf{r}')^2 + 4zz'}\right)}{\sqrt{(\mathbf{r} - \mathbf{r}')^2 + 4zz'}}, \quad (27)$$

wobei die Lösung streng genommen nur für  $\varepsilon \rightarrow \infty$  und  $\varepsilon = 0$  erhalten wird. Der zweite Term stellt darin die Erweiterung durch die dielektrische Grenzfläche dar, an welcher ( $z = 0$ ) die Wechselwirkung für metallische Oberflächen verschwindet bzw. sich für  $\varepsilon = 0$  verdoppelt.

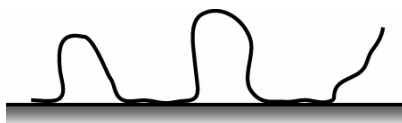
## 3.2 Adsorption an der Fest-Flüssig-Grenzfläche

Zwei essentielle Aspekte bei der Adsorption von Polyelektrolytketten an festen Grenzflächen unter molekularer Betrachtung sind die Konformation des adsorbierten Polymers und die Struktur adsorbierter Ionen an der Fest-Flüssig-Grenzfläche.

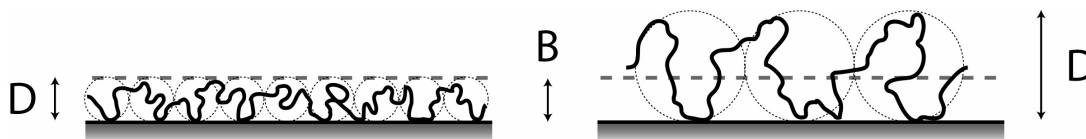
### 3.2.1 Konformation adsorbierter Polymerketten

Die Konformation adsorbierter Polymere weist drei Bereiche auf (s. Abb. 2): an das Substrat gebundene Segmente (*trains*), ungebundene Segmente bzw. Schleifen (*loops*) und in die Lösung ragende freie Kettenenden (*tails*).<sup>G</sup> Die Kettenkonformation hängt weiterhin mit der Stärke des attraktiven Oberflächenpotentials zusammen (s. Abb. 3). Bei stark attraktiven Potentialen ist das Polymer fest adsorbiert, wobei die Dicke der adsorbierten Schicht  $D$  der Potentialweite  $B$  entspricht. Für schwach attraktive Potentiale wird ein schwach adsorbiertes Polymer in einer diffusen Schicht,  $D \gg B$ , erhalten. Generell wird die Konformation einer adsorbierten Polymerkette bestimmt durch das Zu-

<sup>G</sup>Ob beim experimentellen Herunterziehen der Kette von der Unterlage die unterschiedlichen Bereiche aufgelöst werden können, hängt von der Zeitskala auf der das Polymer dynamisch zum Beispiel Schleifen bildet, ab (siehe 4.2).



**Abbildung 2.** Schematische Darstellung der Konformation einer adsorbierten Polymerkette, die adsorbierte Bereiche, Schleifen bzw. ungebundene Bereiche und ein freies Kettenende zeigt.



**Abbildung 3.** Darstellung der Konformation einer adsorbierten Polymerkette in Abhängigkeit von der Stärke des attraktiven Oberflächenpotentials, repräsentiert durch die Potentialbreite  $B$ . Bei stark attraktiven Potentialen entspricht die Dicke der adsorbierten Schicht  $D$  der Potentialbreite  $B$ , bei schwachen Potentialen ergibt sich eine eher diffuse Schicht. Abbildung in Analogie zu <sup>40</sup>.

sammenspiel von Enthalpie- und Entropietermen. Bei Polyelektrolyten tritt zusätzlich eine subtile Balance zwischen elektrostatischer Abstoßung geladener Monomere (Kettenversteifung) und elektrostatischer Wechselwirkung zwischen Substrat und Molekül hinzu. Adsorbiert beispielsweise bei niedrigen Salzkonzentrationen eine Polyelektrolytkette auf einer entgegengesetzt geladenen Unterlage, so dominieren vermutlich die Ladungswchselwirkungen. Eine hohe Ladungsdichte des Moleküls führt zusätzlich aufgrund der Monomer-Monomer-Abstoßung zur Aufweitung des Polymerknäuels und zur Anordnung in einer dünnen Schicht.

Polyelektrolytketten können demnach, abhängig von den experimentellen Bedingungen, sowohl perfekt flach auf dem Substrat liegen als auch Schleifen und Züge bilden. Im zweiten Fall sind die meisten Ladungen zwar in einem bestimmten Abstand zur Oberfläche lokalisiert, dafür tritt dem ein Gewinn an Entropie als Ausgleich entgegen.

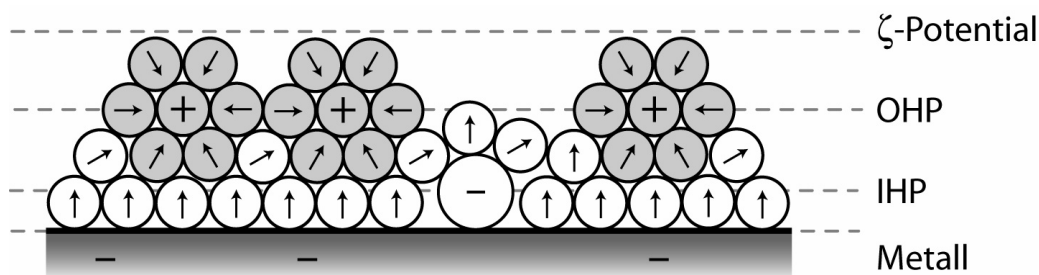
### 3.2.2 Struktur und Ladung der Fest-Flüssig-Grenzfläche

Jede Oberfläche hoher Dielektrizitätskonstante ist in Wasser geladen. Die Ladung kann zum Beispiel durch Dissoziation von Oberflächengruppen oder Adsorption von Ionen aus der Lösung entstehen. Unabhängig vom Ladungsmechanismus wird die Oberflächenladung von geladenen Gegenionen kompensiert, die partiell an der Oberfläche in der sogenannten Stern-Schicht fest gebunden und ansonsten nahe der Oberfläche in der elektrischen Doppelschicht angeordnet sind. Das am besten beschriebene System einer geladenen Fest-Flüssig-Grenze ist wegen der elektrochemischen Relevanz der Kontakt zwischen Metall und Elektrolyt (s. Abb. 4).<sup>53</sup>

Das erste und namensgebende Modell zur Beschreibung der Metall-Elektrolyt-Grenzfläche ist das der Helmholtz-Doppelschicht. Darin werden die Überschussladungen auf der Me-



tallseite durch eine gleiche Anzahl Ladungen auf der Lösungsseite kompensiert, die sich gänzlich in einer Ebene befinden. Diese Doppelschicht, das Metall und die Ebene der Ionen, wird häufig mittels eines Kondensatormodells beschrieben. Gouy und Chapman hingegen vertraten die Ansicht, dass die Ladungswechselwirkung mit dem Metall über diese eine Lage von Ionen hinaus reicht und dass mit zunehmendem Abstand von der Elektrode ein abnehmender Überschuss an Ladungen erwartet wird. Aufgrund der Wärmebewegung sollte diese Lage von Ionen diffus sein. Dieses Bild ist völlig analog zur Gegenladungswolke um eine Punktladung im Debye-Hückel-Modell. Stern verband schließlich die beiden Ansichten dahingehend, dass neben einer Schicht von Überschussladungen in der Helmholtz-Schicht einige der Ladungen sich weiter in die Lösung hinein erstrecken. Außerdem wird angenommen, dass die der Elektrode nächsten Ionen in zwei Schichten adsorbiert sind, wobei die innere Schicht aus wenig solvatisierten und eventuell chemisch gebundenen Ionen in Kontakt mit der Oberfläche besteht. Später postulierten Bockris und Potter, dass die dipolaren Eigenschaften von Wasser für eine orientierte Schicht Wasser auf der Elektrode sorgen, d.h. die innere Schicht im Stern-Modell vorwiegend aus Wasser besteht.



**Abbildung 4.** Struktur der Metall-Elektrolyt-Grenzfläche (in Analogie zu <sup>53</sup>). Direkt an der Grenzfläche befindet sich eine Lage orientierter Wassermoleküle mit vereinzelt spezifisch adsorbierten Anionen (innere Helmholtz-Ebene, IHP). Daran schließt sich eine zweite Lage Wassermoleküle an, die teilweise zur Solvathülle von adsorbierten Kationen gehören. Die Ebene der adsorbierten Kationen bezeichnet die äußere Helmholtz-Ebene (OHP). Das Oberflächenpotential wird mit Hilfe von  $\zeta$ -Potential-Messungen außerhalb dieser beiden adsorbierten Schichten bestimmt.

Das Oberflächenpotential bzw. die Oberflächenladungsdichte wird häufig mit elektrokinetischen Messungen bestimmt.<sup>54</sup> Bewegt sich die auf großen Abständen elektrisch neutrale Oberfläche durch ein Medium,<sup>H</sup> so verbleibt ein Teil der diffusiv gebundenen Gegenionen nicht in der Nähe der Oberfläche, sondern wird aufgrund von Reibung abgeschert und die Oberfläche erscheint geladen. Das an dieser Schergrenze vorhandene Potential wird als Zeta-Potential bezeichnet und kann detektiert werden, sofern die Bewegung in einem elektrischen Feld abläuft. Unter Kenntnis der experimentellen Bedingungen wie Viskosität, Leitfähigkeit und Dielektrizitätskonstante der Lösung sowie Druck zur Erzeugung

<sup>H</sup>Die Bewegung der Oberfläche wird experimentell durch Verwendung kleiner Partikel umgesetzt.

des Flusses kann daraus über das angelegte elektrische Potential auf das Oberflächenpotential geschlossen werden.

Wird die Oberflächenladung von dissoziierbaren Oberflächengruppen hervorgerufen, muss auch hier Ladungsregulierung berücksichtigt werden. Die prinzipiellen Mechanismen bei Betrachtung einer zweidimensionalen Oberfläche sind die gleichen wie bei einem linearen Molekül (s. 2.2.2),

$$2.303(\text{pH} - \text{p}K_a) + l_B\kappa = \ln\left(\frac{\alpha}{1 - \alpha}\right) + \Delta \cdot \alpha. \quad (28)$$

Lediglich in den Ladungsregulierungsparameter  $\Delta$  müssen die Ladungswechselwirkungen mit allen Nachbarn im Abstand  $a$  in einer zweidimensionalen Anordnung eingehen,<sup>2</sup>  $\Delta = 2\pi l_B/a \cdot (e^{\kappa a} - 1)^{-1}$ . Es kann festgehalten werden, dass der Dissoziationsgrad einer zweidimensionalen Fläche bei zunehmender Debye-Abschirmlänge schneller erniedrigt wird als der einer eindimensionalen Polyelektrolytkette.

Besondere Bedeutung für Experimente mit dem Rasterkraftmikroskop erlangen oxidähnliche Materialien wie Si-OH, da die Sonde des Rasterkraftmikroskops häufig aus Silicium oder Siliciumnitrid hergestellt wird. Die Ladung solcher Oberflächen kann wegen deren amphoteren Eigenschaften sowohl negativ als auch positiv sein,



Der Nullladungspunkt (*point of zero charge*, PZC) solcher Materialien ist daher unter Berücksichtigung der Gleichgewichtskonstanten aller möglichen Reaktionen gegeben. Experimentell bestimmte Werte des PZC liegen für  $\text{Si}_3\text{N}_4$  bei  $\text{pH}=6.5$  und  $\text{SiO}_2$  bei  $\text{pH}=2$ .<sup>55</sup> Die Oberflächenladung ist positiv/negativ wenn der pH-Wert der Lösung kleiner/größer als der Nullladungspunkt ist.

## 4 AFM-basierte Desorption oberflächenadsorbierter Polyelektrolyte

Kraftspektroskopie an einzelnen Molekülen mit Hilfe eines (Raster-)Kraftmikroskops (*atomic force microscope*, AFM) ist eine experimentelle Methode, um Konformationen und Wechselwirkungen von Makromolekülen in Lösung zu untersuchen. Sie erlaubt insbesondere einzelne Polymere gezielt auf einer Oberfläche adsorbieren zu lassen, um sie anschließend von dieser sukzessive wieder herunterzuziehen. Die dabei wirkende Adsorptionskraft kann hochpräzise quantifiziert werden, so dass selbst marginale Unterschiede im Adsorptionsverhalten, die beispielsweise als Reaktion auf externe Manipulationen auftreten, aufgelöst werden können.

### 4.1 AFM-basierte Einzelmolekülkraftspektroskopie

#### 4.1.1 Funktionsweise eines Rasterkraftmikroskops

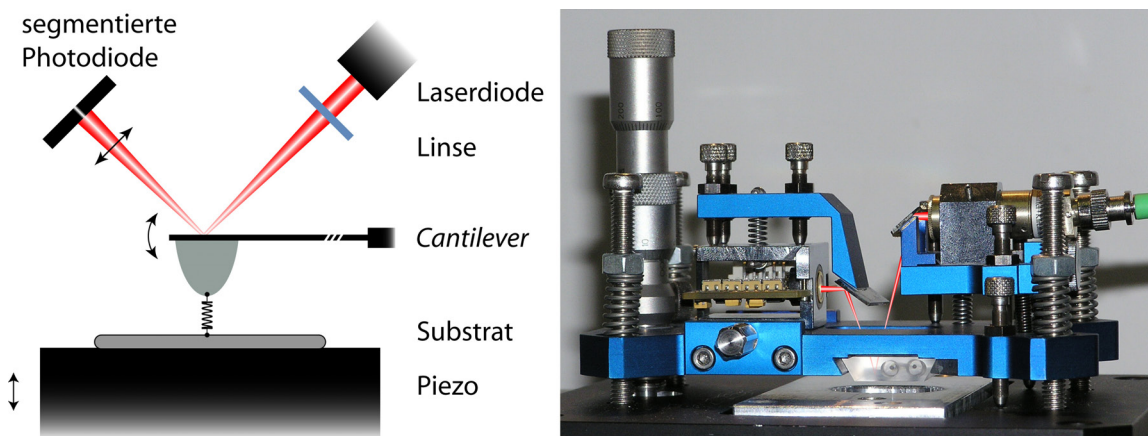
Das erste Rasterkraftmikroskop wurde 1986 mit der Zielsetzung Oberflächen mit hoher örtlicher Auflösung abzubilden, vorgestellt.<sup>56</sup> Als Kraftsensor dient eine scharfe Spitze am Ende einer weichen Blattfeder (*cantilever*), deren wechselwirkungsabhängige Verbiegung meist optisch detektiert wird (s. Abb. 5). Zum Abbilden der Oberfläche wird schließlich die Position der AFM-Spitze bezüglich des Substrats lateral mittels piezoelektrischer Kristalle verändert. Die Spitze rastert also die Unterlage, wobei lokale oberflächenspezifische Änderungen über die Verbiegung der Blattfeder aufgelöst werden. Verschiedene Abbildungsmodi wurden entwickelt, so dass neben festen Substraten auch weiche Objekte, zum Beispiel Zellen, untersucht werden können.<sup>1</sup>

Das AFM bietet aber nicht nur die Möglichkeit des hochauflösenden Abbildens, sondern entwickelte sich zunehmend zur kraftspektroskopischen Technik, mit der inter- und intramolekulare Wechselwirkungen von oberflächenimmobilisierten Systemen untersucht werden können.<sup>4,57,58</sup> Solche Kraftexperimente werden im Gegensatz zum Abbilden von Objekten und Oberflächen, das oft unter Umgebungsbedingungen stattfindet, normalerweise in wässrigen Medien durchgeführt. Zum einen entfalten biologische Moleküle ihre natürliche Funktion in wässriger Umgebung und zum anderen übersteigen die bei Messungen in Luft bedeutenden Kapillarkräfte, verursacht von einer dünnen Schicht Wasser auf der Oberfläche, oft die zu untersuchenden Kräfte.

Bei Kraftmessungen mit dem AFM wird die Spitze an das Substrat angenähert und an-

---

<sup>1</sup>Die zwei grundlegendsten Modi sind die konstanter Kraft und konstanter Höhe. Bei ersterem wird die Wechselwirkungskraft zwischen Spitze und Oberfläche konstant gehalten und der Abstand zwischen ihnen entsprechend angepasst, bei letzterem bleibt der Abstand zwischen Spitze und Oberfläche erhalten und die Verbiegung der Blattfeder wird aufgezeichnet. Bei weichen Proben wird hingegen oft der *tapping*-Modus verwendet, bei dem die Blattfeder oberhalb der Probe oszilliert und diese jeweils nur kurz berührt, so dass dauerhafte Krafteinwirkungen vermieden werden.



**Abbildung 5.** Funktionsweise eines Kraftmikroskops und experimentelle Umsetzung in einem selbstgebauten Instrument. Ein fokussierter Lichtstrahl einer Laserdiode wird von der reflektierenden Beschichtung der Blattfeder zurückgestrahlt und mit einer segmentierten Photodiode detektiert. Änderungen in der Wechselwirkung zwischen Spitze und Substrat führen zur Verbiegung der Blattfeder und können so aufgelöst werden. Bei der Kraftspektroskopie interessieren vorwiegend Molekülwechselwirkungen, so dass zwischen Spitze und Substrat häufig Moleküle „eingespannt“ werden. Auch wird das Substrat mittels piezoelektrischem Stellglied („Piezo“) in der Regel lediglich vertikal und nicht wie beim Rastern erforderlich auch lateral bewegt. Die Blattfeder ist in der Darstellung am stärksten vergrößert dargestellt, angedeutet durch die abgerundete Spitze, die an ihrem Ende typischerweise einen Krümmungsradius von weniger als 40 nm bei einer Länge von etwa 3  $\mu\text{m}$  aufweist. Die Spitze ist also makroskopisch gesehen sehr spitz, auf der molekularen Ebene aber durchaus flach.

schließlich wieder entfernt. Die wechselwirkungsabhängige Auslenkung der Blattfeder<sup>J</sup> sowie die Ausdehnung des Piezostellglieds werden dabei aufgezeichnet und anschließend mit Hilfe des Hookschen Gesetzes in eine Kraft-Abstands-Kurve umgerechnet. Die verwendeten Kraftmikroskope sind in der Regel für kraftspektroskopische Fragestellungen optimiert worden. Die dabei erreichte Kraftauflösung liegt im Größenordnungsbereich von 10 pN für kommerziell erhältliche Blattfedern, ist aber prinzipiell nur durch das thermische Rauschen bei Raumtemperatur limitiert.<sup>59</sup>

#### 4.1.2 Einzelmolekülkraftspektroskopie

Mechanische Experimente mit einzelnen Molekülen wurden möglich, als neben der erforderlichen Ortsauflösung im (Sub-)Nanometerbereich auch eine Kraftauflösung von Piconewton bis Femtonewton erreicht werden konnte. Methodisch gelang dies außer mit dem AFM unter anderem mit magnetischen Kügelchen,<sup>60</sup> der optischen Pinzette,<sup>61,62</sup> Glasmikronadeln<sup>63</sup> oder der *Biomembrane force probe*.<sup>64</sup> Das mit den zur Verfügung stehenden

<sup>J</sup>Die Auslenkung der Blattfeder ist abhängig von deren Federkonstanten. Typische Werte kommerziell erhältlicher Blattfedern für Kraftmessungen liegen bei 10-100 pN/nm.

Techniken zugängliche Kraftfenster reicht von entropischen Kräften (fN-Bereich) bis zu kovalenten Bindungen (nN-Bereich) und erlaubt somit sowohl strukturelle als auch funktionelle Untersuchungen von Biomolekülen in ihrer natürlichen Umgebung.<sup>65</sup>

Die ersten dahingehenden Experimente wurden an Rezeptor-Ligand-Systemen bei konstanter Zuggeschwindigkeit und Federkonstanten durchgeführt.<sup>66,67</sup> Die damit gewonnenen Ergebnisse repräsentieren jedoch nur einen einzelnen Punkt im Kraftspektrum, da sie die Kraftladungsrate, d.h. die Tatsache, dass jede nicht-kovalente Bindung bei beliebiger Zugkraft nach hinreichend langer Zeit zerreißt, vernachlässigten.<sup>68–70</sup> Nur die dynamische Kraftspektroskopie, bei der die Kraftladungsrate  $\dot{F}$  variiert wird, kann daher die Energielandschaft von Rezeptor-Ligand-Systemen bestimmen und Einblicke in Bindungspotentiale liefern.<sup>71–73</sup>

Auf der Einzelmolekülebene können inter- und intramolekulare Kräfte mit hoher Präzision gemessen und auf diese Weise Konformationen und Bindungsstärken von Molekülen bestimmt werden.<sup>74,75</sup> Diese mechanische Manipulation vieler Biopolymere führte zu detaillierten Einsichten in die Mechanik von Proteinen,<sup>75,76</sup> DNA<sup>77,78</sup> oder Polysacchariden.<sup>79</sup> Einen Schritt weitergehend konnte durch die gezielte Kombination von mechanischer und optischer Manipulation eines Polyazopeptidmoleküls ein synthetischer molekularer Motor realisiert werden.<sup>80</sup>

Ein deutlich jüngeres Gebiet ist die Anwendung kraftspektroskopischer Messungen an Systemen synthetischer Polymere. Das experimentelle Untersuchen der Desorption einzelner Polymere von festen Substraten kann helfen, die grundlegenden Prozesse der Adsorption und damit die molekularen Wechselwirkungen zwischen Polymeren und Oberflächen zu verstehen. Besonderes Interesse kommt dabei externen Stimuli (Änderung von pH-Wert, Salzkonzentration, etc.) zu, um erstens nachzuvollziehen, wie sich diese in den Adsorptionseigenschaften der Polyelektrolyte niederschlagen und zweitens die molekularen Wechselwirkungen gezielt extern steuern zu können.

## 4.2 Desorptionsmessungen

Desorptionsmessungen erlauben die hochpräzise Quantifizierung der Wechselwirkungskraft zwischen einem einzelnen Polymer und einem festen Substrat, indem das an der AFM-Spitze kovalent gebundene Polymer kontinuierlich von der Oberfläche heruntergezogen wird. Das Desorbieren eines (schwach) adsorbierten Polymers von der Unterlage entspricht dabei wegen des sukzessiven Ablösens der Kette dem Losbinden mehrerer Bindungen in Serie.

Die Gestalt der resultierenden Kraft-Abstands-Kurve ist stark abhängig von der Dynamik des Polymers auf der Oberfläche. Im Extremfall langsamer interner Dynamik bleibt eine eventuell vorhandene Schleifen-Konformation der Kette (siehe 3.2.1) auf der Zeitskala eines Experiments erhalten. Ein Polymersegment ist dann zwischen dem kovalenten

Ankerpunkt an der AFM-Spitze und einem Oberflächenkontakt fest eingespannt.<sup>K</sup> Beim Vergrößern des Abstands zwischen Spitze und Unterlage wird dieses Polymersegment gestreckt, die Kraft steigt bis der entsprechende Oberflächenkontakt losbindet, ein neues Polymersegment damit zugänglich ist, der Streckungsgrad des nun längeren Segments abnimmt und die Kraft daraufhin instantan abfällt bevor sie aufgrund der Streckung des nun längeren zugänglichen Polymersegments wieder ansteigt, usw.. Auf diese Weise konnte eine Analyse der Schleifengrößen durchgeführt werden, die das erwartete de Gennes-Skalengesetz bestätigte.<sup>81</sup> Im Grenzfall einer perfekt ausgestreckten Polymerkette kann in diesem Bild jedes Monomer als Oberflächenkontakt angesehen werden. Solche „Sägezahnmuster“ in den Kraft-Abstands-Kurven werden außerdem beim Entfalten von Proteindomänen sowie den meisten Rezeptor-Ligand-Systemen beobachtet. Im anderen Extremum sehr schneller Bindungsdynamik werden keine Polymersegmente gestreckt, da jeder Oberflächenkontakt so schnell öffnet und schließt, dass das Polymersegment schlicht von der Oberfläche abgelöst werden kann. Gleichzeitig stellt die große Anzahl an Kontaktpunkten sicher, dass ein simultanes Losbinden aller Bindungen, d.h. vollständiges Ablösen der Polymerkette, sehr unwahrscheinlich bleibt. Dieser kontinuierliche quasi unter Gleichgewichtsbedingungen stattfindende Losbindungsprozess zeigt sich als flaches Plateau konstanter Kraft in den Kraft-Abstands-Kurven.

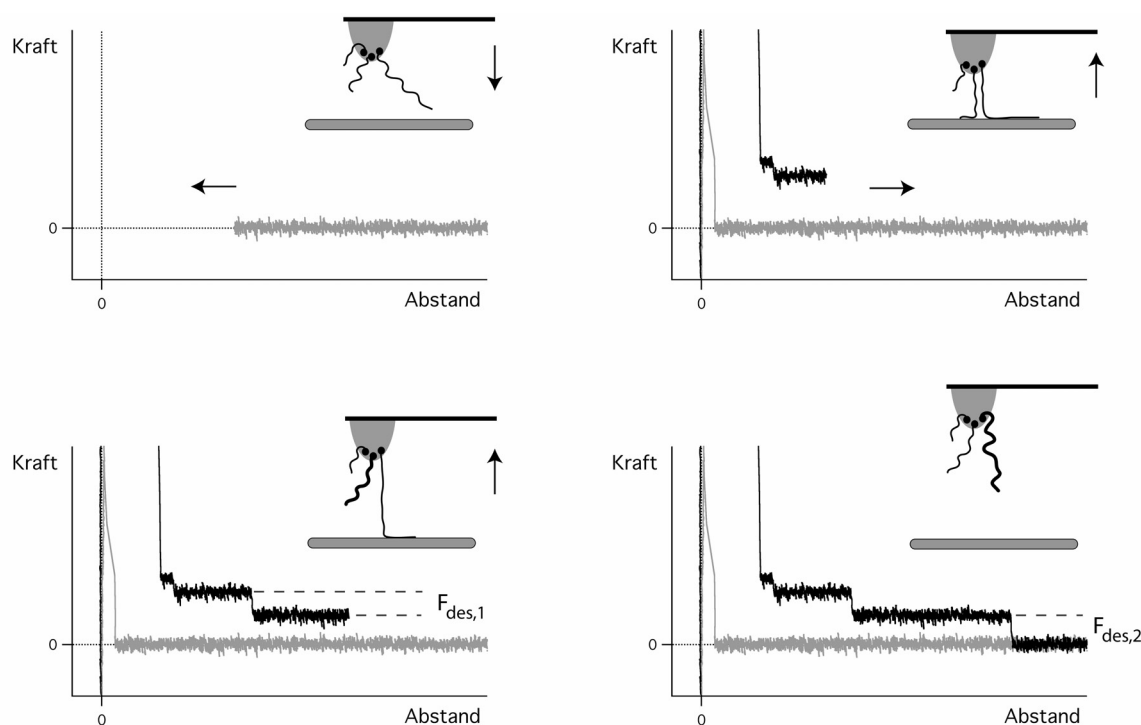
Im Experiment kann das beobachtete Verhalten also mitunter von der Geschwindigkeit  $v$ , mit der AFM-Spitze und Unterlage separiert werden, abhängen.<sup>L</sup> Die Tatsache, dass beim Desorbieren von Polyelektrolyten von festen Oberflächen sehr häufig flache Plateaus in den Kraft-Abstands-Kurven beobachtet werden, hängt wohl auch damit zusammen, dass sowohl Polyelektrolytkette als auch Oberfläche oft vollständig hydratisiert sind und das Molekül damit eine entsprechend hohe Mobilität auf der Oberfläche besitzt.

In einem typischen Desorptionsexperiment (s. Abb. 6) werden einige Polymerketten kovalent an der AFM-Spitze verankert. Wird die Spitze in Kontakt mit der „attraktiven“ Oberfläche gebracht, so adsorbieren die Polymerketten vollständig darauf. Beim Separieren von AFM-Spitze und Substrat zeigt sich zunächst bei kleinen Distanzen eine unspezifische Kraftspitze in der Kraft-Abstands-Kurve, bevor das für die entsprechende Polymer-Substrat-Wechselwirkung spezifische Desorptionsplateau beobachtet wird. Die vollständige Desorption einer Polymerkette kann durch das sprunghafte Abfallen der Desorptionskraft, d.h. als Stufe in der Kraft-Abstands-Kurve, identifiziert werden.

Die mittlere Desorptionskraft einer Polymerkette mit der Unterlage unter den gegebenen experimentellen Bedingungen wird durch statistische Analyse einer hinreichend großen Anzahl an Kraftplateaus ermittelt (s. Abb. 7). Zeigt die Kraft-Abstands-Kurve mehrere Plateaus, d.h. wurden mehrere Ketten desorbiert, kann die mittlere Desorptionskraft mit

<sup>K</sup>Die Stärke der Einspannung ist bestimmt durch den schwächeren Kontakt, in diesem Fall den Oberflächenkontakt, da dieser nicht kovalenter Natur ist.

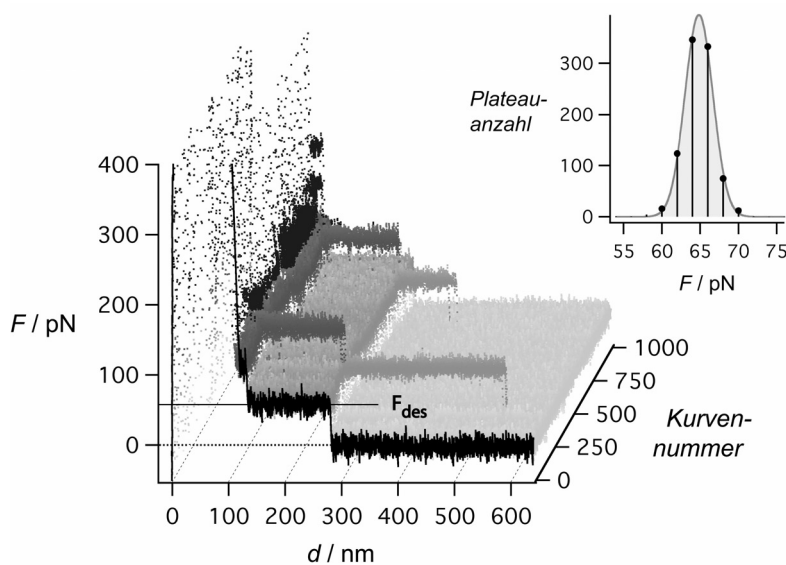
<sup>L</sup>Typische Zuggeschwindigkeiten liegen bei  $v \leq 1 \mu\text{m/s}$ . Bei deutlich höheren Geschwindigkeiten wirken zunehmend hydrodynamische Kräfte auf die Blattfeder ein.



**Abbildung 6.** Prinzip eines typischen Desorptionsexperiments. Die an der AFM-Spitze kovalent gebundenen Polymere adsorbieren beim Kontakt der AFM-Spitze mit der Unterlage auf dieser. Beim Zurückfahren der AFM-Spitze wird das Polymer dann in einem Gleichgewichtsprozess von der Oberfläche desorbiert, was sich in der zugehörigen Kraft-Abstands-Kurve als Plateau konstanter Kraft darstellt. Da die vollständige Desorption einer Polymerkette sich als sprunghaften Abfall der Kraft darstellt, entspricht die Anzahl der Plateaus der Anzahl desorbierter Polymermoleküle.

hoher Präzision nur von dem letzten Plateau jeder Kurve ermittelt werden, da hier nur noch eine einzelne Kette auf der Oberfläche verblieben ist und die Desorptionskraft nicht durch intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den Polymerketten verändert werden kann.

Die ersten Desorptionsmessungen mit einzelnen Polymeren wurden mit Polyelektrolyten auf Quarz durchgeführt.<sup>5,82</sup> Es konnte gezeigt werden, dass die gemessene Plateaukraft sich aus einem ladungsunabhängigen und einem Coulomb-Beitrag zusammensetzt, wobei letzterer in Übereinstimmung mit der Debye-Hückel-Theorie proportional zur Debye-Abschirmlänge und zur Linienladungsdichte des Polymers ist.<sup>5,6</sup> Zum besseren Verständnis des ladungsunabhängigen Beitrags wurde unter anderem die Desorption von Polyelektrolyten auf selbstorganisierenden Monolagen unterschiedlich hydrophober Kopfgruppen untersucht.<sup>7</sup> Generell zeigte sich, dass nichtelektrostatische Beiträge selbst bei hochgeladenen Oberflächen eine bedeutende Rolle spielen und dass bei der theoretischen Beschreibung die oberflächeninduzierte Ladungsregulierung des Polyelektrolytmoleküls einbezogen



**Abbildung 7.** Darstellung einer Meßreihe bestehend aus 1000 Kraft-Abstands-Kurven. In den Experimenten wurde die Desorption von Polyglutaminsäure von einem Calcitkristall untersucht (Details siehe Abschnitt 7). Bemerkenswert ist, dass bei jedem Experiment dasselbe Polymer beobachtet wurde ( $d \approx 270$  nm), zeitweilig zudem noch ein Zweites (Kurvennummern etwa 500 und 950). Die Konstanz der Kraftplateaus erlaubt eine präzise Auswertung der Desorptionskräfte, das zugehörige Kräftehistogramm ist im Einsatz dargestellt.

werden muss.<sup>8</sup>

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass mit dieser Methode die Desorptionskraft einer Polyelektrolytkette auf einem festen Substrat sehr präzise und reproduzierbar in Abhängigkeit von den experimentellen Bedingungen wie pH-Wert oder Salzkonzentration der wässrigen Lösung bestimmt werden kann. Das Verständnis ist aber unter anderem aufgrund der komplexen Ladungsregulierungsmechanismen von Polyelektrolyten an geladenen Unterlagen noch unvollständig.



## 5 Desorptionsmessungen an gepfropften Polyacrylsäure-Monolagen

Gepfropfte (*grafted*) Polyelektrolyte sind mit einem Kettenende an einem Substrat kovalent oberflächenverankert. Solche Polymermonolagen sind für eine Reihe industrieller Anwendungen von Interesse, da sie unter anderem auf dem Substrat, an das sie angebunden sind, nur teilweise adsorbieren, so dass der größte Teil des Moleküls anderweitig interagieren kann.<sup>83</sup> Auf diese Weise können zum Beispiel kolloide Partikel in Lösung gegen Ausflockung stabilisiert werden.

Bei der Herstellung solcher Polymermonolagen werden zwei grundlegende Techniken unterschieden. Beim sogenannten Pfropfen von der Oberfläche (*grafting-from*) wird die Polymerisation mittels eines oberflächengebundenen Initiators an der Oberfläche gestartet, während beim Pfropfen an die Oberfläche (*grafting-to*) das Polymer eine funktionelle Endgruppe trägt, die mit dem Substrat kovalent reagiert und somit als Anker fungiert.

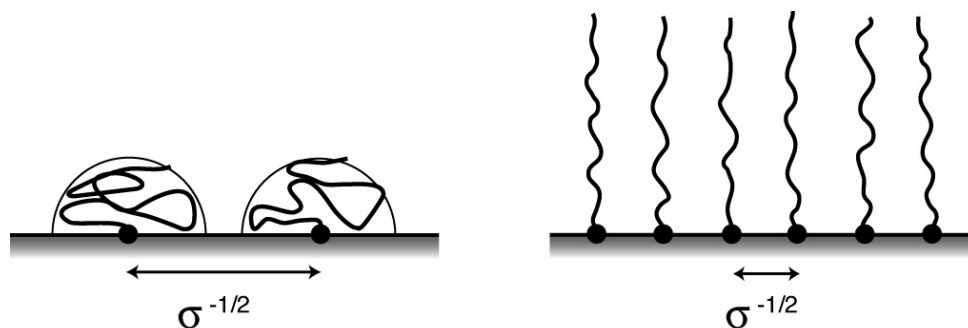
Ebenso werden bei der Charakterisierung in Abhängigkeit von der Pfropfdichte  $\sigma$ , dem Inversen der durchschnittlichen Fläche pro Kette, zwei Regimes unterschieden (s. Abb. 8). Im Bereich geringer Dichte übersteigt der Ankerabstand die Kettenausdehnung, so dass benachbarte Polymerketten nicht miteinander interagieren und als Konformation voneinander getrennte Pilze auf der Oberfläche vorgefunden werden (*mushroom-regime*). Im Bereich hoher Dichte führt die starke Überlappung der Ketten zur gegenseitigen Abstoßung und damit zum Aufrichten der Ketten. Es bildet sich eine sogenannte Bürste (*brush*)<sup>M</sup>, deren Ausdehnung die Knäuelgröße deutlich übersteigen kann.<sup>40,84</sup> Im dazwischenliegenden Bereich beginnt das Überlappen einer Polymerkette aus  $N$  Monomeren der Länge  $a$  in Abhängigkeit vom End-zu-End-Abstand  $R = aN^\nu$  (siehe 2.1) bei einer Ankerdichte von  $\sigma^* = R^{-2}$ , d.h. in guten Lösungsmitteln bei der Überlappungsdichte  $\sigma_g^* \sim a^{-2}N^{-6/5}$  und in schlechten Lösungsmitteln bei  $\sigma_b^* \sim a^{-2}N^{-2/5}$ .

### 5.1 Experimenteller Teil

*Die Synthese und chemische Charakterisierung der gepfropften Polyacrylsäure-Monolagen wurde durchgeführt in der Gruppe von Dr. Laurent Billon, Laboratoire de Physico-Chimie des Polymères, Université de Pau et des pays de l'Adour, Hélioparc Pau-Pyrénées, 2 Av Président Angot, 64053 Pau Cedex 09, Frankreich.*

**Gepfropfte Polyacrylsäure-Monolagen** Die in dieser Arbeit verwendeten Polyacrylsäure-Monolagen wurden mit lebender kontrollierter radikalischer Polymerisation (CRP)

<sup>M</sup>Die Eigenschaften einer Polyelektrolytbürste werden durch zwei Längenskalen charakterisiert: der mittleren vertikalen Ausdehnung der Polymerketten von der Oberfläche und der Ausdehnung der Gegenladungswolke.



**Abbildung 8.** Schematische Darstellung oberflächenverankerter gepfropfter Polyelektrolyte. Links ist die Pfropfdichte geringer als die Überlappungsdichte, so dass sich ein Pilz-Regime bildet. Rechts führt die hohe Dichte an Polyelektrolytketten zu deren Aufrichtung und zur Bildung einer Polyelektrolyt-Bürste.

unter Verwendung oberflächenimmobilisierter Initiatoren hergestellt (*grafting-from*).<sup>85</sup> Diese Methode bietet die Möglichkeit, Polymere mit mehreren hundert Nanometern Konturlänge bei gleichzeitig niedriger Polydispersität zu synthetisieren.<sup>N</sup>

Zusätzlich zur Oberfläche wurden auch in Lösung Polyacrylsäure-Ketten gebildet („freie Polymere“), die im Anschluß bezüglich ihres Molekulargewichts mit Gel-Permeations-Chromatographie (GPC) untersucht wurden. Da bei dieser Methode die Trennung der Polymere in den Chromatographie-Trennsäulen ausschließlich aufgrund ihrer Größe stattfindet, wird die Bezeichnung Größenausschluss-Chromatographie (*size exclusion chromatography*, SEC) synonym verwendet.<sup>86</sup>

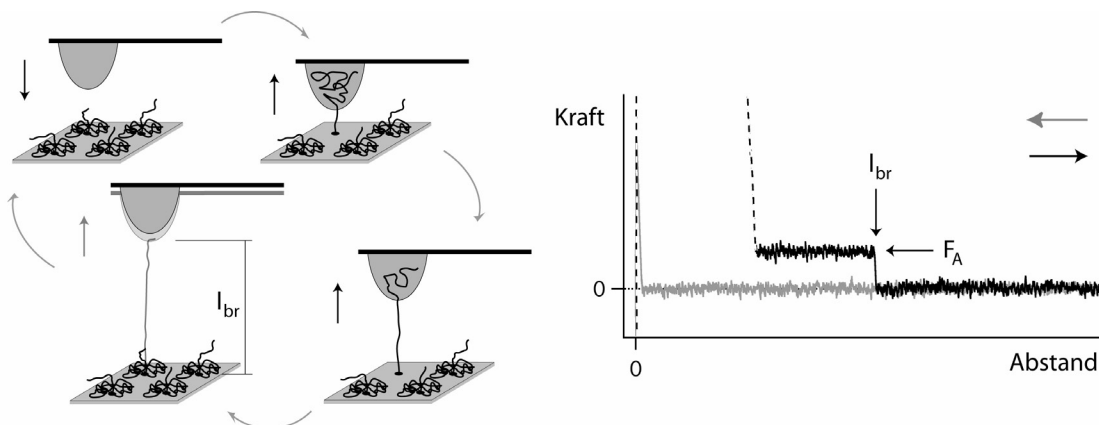
Weiterhin ist die Polyacrylsäure über eine spaltbare Estergruppe mit der Oberfläche verbunden, so dass nachträglich Ketten abgespalten werden können und die Pfropfdichte eingestellt werden kann. Bei geringen Pfropfdichten ( $<0.01 \text{ nm}^{-2}$ ) kann diese nicht ausschließlich mit Ellipsometrie ermittelt werden, sondern nur in Kombination mit Photoelektronenspektroskopie (XPS).<sup>O</sup>

<sup>N</sup>Dazu wurde auf die Oberfläche eines Siliciumscheibchens (*wafer*), nachdem auf dieser Hydroxylgruppen ( $\text{OH}^-$ ) erzeugt wurden, eine selbstorganisierende Monolage des Polymerisations-Initiators aufgebracht. Die radikalische Polymerisation, bei der Acrylmonomere in Lösung mit einem Radikal am Kettenende reagieren, muss kontrolliert ablaufen, um eine geringe Dispersität der Kettenlängen zu erreichen. Dazu dürfen stets nur wenige aktive Zentren, d.h. Polymerradikale, gleichzeitig vorhanden sein, da ansonsten vorzeitige Abbruchreaktionen eintreten. Erreicht wird dies durch Gegenradikale, häufig Nitroxide (*nitroxide mediated polymerization*, NMP), welche reversibel an die Polymerradikale binden können und die Kettenenden inaktivieren („schlafende Spezies“). Im zeitlichen Mittel dominiert die schlafende Spezies, so dass ein homogenes Kettenwachstum erreicht wird. Der Polydispersitätsindex der Polyacrylsäure-Ketten betrug abhängig von der verwendeten Probe zwischen 1.2 und 1.3.

<sup>O</sup>Bei der Polymerisation wird eine Referenzprobe hergestellt mit einer Pfropfdichte, die mit Ellipsometrie bestimmt werden kann. Abhängig von der Anzahl der Ketten auf der Oberfläche ändern sich die Intensitäten der Kohlenstoff- und Silicium-Peaks in den XPS-Spektren. Ein Vergleich der Intensitäten mit denen der Referenz erlaubt schließlich eine Extrapolation der Pfropfdichte.

Polyacrylsäure (PAA)  $(-\text{CH}_2-\text{CHCOOH})_n$  wird industriell in großen Mengen hergestellt. Anwendungsbereiche sind zum Beispiel als Flockungsmittel zum Klären von Abwässern, als Pigmentverteiler in wasserlöslichen Farben oder als Superadsorber in Produkten, z.B. Windeln, die das Vielfache ihres eigenen Gewichts an Wasser aufnehmen können müssen.<sup>19</sup> Die folgenden Ausführungen beziehen sich wesentlich auf zwei Polyacrylsäure-Monolagen, deren Pfropfdichte gering ist, d.h. die Polymerketten überlappen nicht oder nur schwach unter der Annahme einer 3d-Konformation der Polymere. Für die Pfropfdichten der „dichten“ Monolage  $\sigma_D$  und der „verdünnten“ Monolage  $\sigma_d$  gilt in etwa  $\sigma_D \approx 0.005 \text{ nm}^{-2} \approx 2.3 \cdot \sigma_d$ .

**Desorptionsmessungen an gepfropften Polymeren** Das Prinzip der Desorptionsmessungen an gepfropften Polyelektrolytketten ist analog zu dem spitzenverankerter Polyelektrolytmoleküle auf festen Oberflächen (siehe 4.2), lediglich die Geometrie ist umgedreht (s. Abb. 9). Die PAA-Ketten sind an der Unterlage verankert und desorbieren im Experiment von der AFM-Spitze. Entsprechend werden in den Kraft-Abstands-Kurven ebenfalls die typischen Kraftplateaus beobachtet, die in diesem Fall die Wechselwirkung des Polymers mit der AFM-Spitze wiedergeben.



**Abbildung 9.** Desorptionsexperiment bei dem eine oberflächenverankerte gepfropfte Polyacrylsäure-Kette auf einer AFM-Spitze aus Siliciumnitrid adsorbiert und von dieser desorbiert wird. Der Prozess ist dabei völlig analog zu dem in Abbildung 6 dargestellten. Der Abstand, bei dem das Plateau endet, d.h. die Kette vollständig desorbiert ist, wird als Länge der Polymerbrücke oder Brückenlänge  $l_{br}$  bezeichnet.

Die Beobachtung flacher Plateaus in den Kraft-Abstands-Kurven bei Verwendung von Siliciumnitrid ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ )-Spitzen ist allerdings erwähnenswert, als eine  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -Spitze bedingt durch den Ätzprozess bei der Herstellung eine deutlich erhöhte Rauigkeit im Vergleich zu den sonst verwendeten Substraten aufweist. Dies wiederum legt die Vermutung nahe, dass die Polymere eine hohe laterale Beweglichkeit auf der Oberfläche aufweisen. Dieser Gesichtspunkt molekularer Reibung und lateraler Mobilität von einzelnen Polymeren

auf Oberflächen wurde in einer eigenständigen Arbeit untersucht,<sup>87</sup> die bestätigte, dass viele Polymere auf glatten Oberflächen derart mobil sind, dass sie uneingeschränkt über die Oberfläche gezogen werden können. Bei Systemen höherer Reibung konnte darüber hinaus mit AFM-Messungen der Reibungskoeffizient einzelner Moleküle auf Oberflächen bestimmt werden.<sup>88</sup>

Die Verwendung von oberflächenverankerten Polymeren bietet vor allem aufgrund der Tatsache, dass die Längenverteilung der gepfropften Polyacrylsäure-Ketten durch die GPC-Charakterisierung bekannt ist und deren Ergebnisse direkt mit den gemessenen Brückenlängen der Kraft-Abstands-Kurven verglichen werden können, die Möglichkeit, konturlängenspezifische Aspekte der Polyelektrolytadsorption zu untersuchen.

## 5.2 Ergebnisse

**Molekulargewichtsbestimmung** Das Molekulargewicht von oberflächenverankerten gepfropften Polymeren kann mit Chromatographiemethoden nicht direkt bestimmt werden. Vielmehr müssen entweder zusätzlich freie Polymere in Lösung für die Analyse polymerisiert werden oder die gepfropften Ketten müssen abgespalten werden, wodurch die Probe natürlich für weitere Anwendungen unbrauchbar wird. Desorptionsmessungen hingegen stellen eine nicht-invasive analytische Methode zur Molekulargewichtsbestimmung dar, bei der die gemessenen Brückenlängen ausgewertet werden. Darüber hinaus erlaubt die AFM-basierte Kraftspektroskopie orts aufgelöste Messungen, so dass auch lokale Effekte untersucht werden können. Die in den Experimenten beobachteten Brückenlängen sind in dem untersuchten Bereich der Pfropfdichte von dieser abhängig. Je niedriger die Pfropfdichte, d.h. je mehr Fläche jeder Kette im Mittel auf der Oberfläche zur Verfügung steht, desto stärker muss die Adsorption an der AFM-Spitze sein, damit die gemessene Plateaulänge der Konturlänge entspricht. Daher konnte die Molekulargewichtsverteilung der „verdünnten“ PAA-Monolage lediglich mit Gold-bedampften AFM-Spitzen gemessen werden, nicht aber mit Siliciumnitrid-Spitzen.

Bei Desorptionsmessungen als analytische Methode zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung oberflächenverankerter gepfropfter Polyelektrolyt-Monolagen empfiehlt sich daher aufgrund der hohen Adhäsionsstärke die Verwendung metallisierter AFM-Spitzen.

**pH-Abhängigkeit der Brückenlänge** Bei Verwendung von AFM-Spitzen aus Siliciumnitrid wirkt sich eine Veränderung des pH-Werts der wässrigen NaCl-Lösung zwischen 4 und 11 deutlich auf die gemessenen Verteilungen der Brückenlängen aus. Gründe sind hierfür zum einen die schlechte Lösungsmittelqualität des Wassers für PAA bei  $\text{pH} < 6$  und zum anderen eine mit der negativen Aufladung der PAA-Ketten einhergehende verringerte Adsorptionsstärke bei hohen pH-Werten.

Die gemessenen Verteilungen der Brückenlängen der „dichten“ PAA-Monolage sind bei

pH 4-5 bimodal, d.h. zeigen neben der Verteilung, die die GPC-Verteilung reproduziert, zusätzlich noch eine Verteilung bei kürzeren Längen. Ein Grund der Bimodalität könnte sein, dass der durch die Lösungsmittelqualität bedingte Prozess des Kollabierens der Ketten ungleichmäßig stattfindet und vom lokalen elektrostatischen Potential abhängt, so dass kollabierte und geschwollene Zustände koexistieren könnten.<sup>89</sup> Andererseits muss auch bedacht werden, dass die Ketten mit der Oberfläche, auf der sie verankert sind, wechselwirken können, wobei eine erhöhte Wechselwirkung der Ketten mit der Pfpf Oberfläche zur Aufteilung der Ketten in zwei Populationen führen kann, nämlich adsorbierte und gestreckte Ketten.<sup>90</sup> Bei der „verdünnten“ PAA-Monolage wird die Bimodalität nicht beobachtet, es können aber beide Verteilungen unabhängig voneinander detektiert werden. Das Auftreten der jeweiligen Verteilung scheint dabei von der Vorgeschichte abhängig zu sein.

**pH-Abhängigkeit der Desorptionskraft** Die Linienladungsdichte der Polyacrylsäure-Ketten und damit die elektrostatische Abstoßung mit der negativ geladenen AFM-Spitze ist vom pH-Wert der Lösung abhängig. Die mit steigendem pH-Wert zunehmende Aufladung des Moleküls führt demnach zur Verringerung der Desorptionskraft der Polyacrylsäure an der  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -Spitze und wegen deren Korrelation mit den gemessenen Plateaulängen (s. Kap. 6) zur Verschiebung der Längenverteilung zu niedrigeren Werten. Da das Dissoziationsgleichgewicht neben der elektrostatischen Abstoßung entlang der Kette auch von der elektrostatischen Abstoßung benachbarter Ketten beeinflusst sein könnte, kann es zu Unterschieden im pH-Verhalten der „dichten“ und „verdünnten“ Polymermonolage kommen. Dieses Argument würde den Dissoziationsgrad der „dichten“ Monolage im Vergleich zur „verdünnten“ Monolage reduziert erscheinen lassen. In Übereinstimmung damit stehen sowohl die beobachtete Abnahme der Desorptionskraft als auch der Brückenlänge, die bei der „dichten“ Probe erst bei höheren pH-Werten auftritt.

In dem pH-Bereich, der geladene PAA-Moleküle repräsentiert, ist die gemessene Desorptionskraft zudem von der Konturlänge der Polymerketten abhängig. Die Ergebnisse lassen vermuten, dass der Dissoziationsgrad mit zunehmender Konturlänge leicht abnimmt.

## 6 Kompetitive Adhäsion überbrückender Polymere

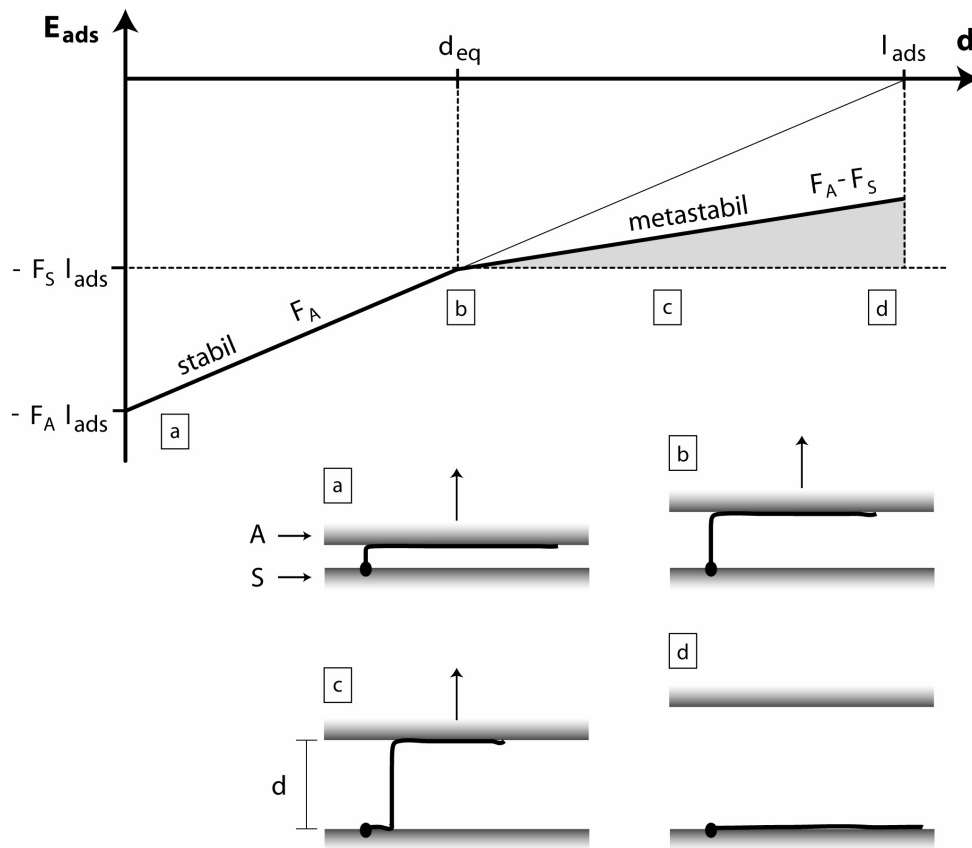
Bei Klebungen<sup>P</sup> beispielsweise wird die Haftung zwischen zwei Oberflächen durch Polymere vermittelt. Die Qualität ist dabei entscheidend davon abhängig, inwieweit die Moleküle eine starke Adhäsion zu beiden Oberflächen ausbilden, ohne dass die Überbrückung verloren geht. Im Fall überbrückender Polymere können die Polymerketten auf beiden Oberflächen adsorbieren, die Oberflächen konkurrieren sozusagen um das Polymer. Kompetitive Aspekte der Adhäsion könnten hierbei eine wichtige Rolle spielen. Die mit Desorptionsexperimenten gemessene Desorptionskraft ist jedoch einzig durch die Wechselwirkung des Polymers mit der Oberfläche, von der es desorbiert wird, bestimmt. Im Gegensatz dazu sollte die Länge der Polymerbrücke bzw. Brückenlänge, d.h. der Abstand, bei dem die Kraftplateaus der Kraft-Abstands-Kurven enden, von beiden Oberflächen abhängen.

### 6.1 Modell zur differentiellen Adhäsion

Bei Desorptionsmessungen an oberflächenverankerten gepfropften Polymermonolagen werden die beiden Oberflächen durch das Substrat, auf dem die Ketten angebunden sind, und die AFM-Spitze, von der sie desorbiert werden, repräsentiert. Wird die AFM-Spitze der Monolage angenähert, werden die Moleküle nur dann auf dieser adsorbieren, sofern dies energetische Vorteile mit sich bringt. Vereinfacht ist dies gegeben, wenn die Adsorptionskraft mit der AFM-Spitze  $F_A$  die mit dem Substrat  $F_S$  übersteigt. In diesem Fall sei angenommen, dass die Kette mit der Länge  $l_{ads}$  auf der AFM-Spitze adsorbiert. Das Separieren von AFM-Spitze und Unterlage führt zum kontinuierlichen Desorbieren der Monomere von der Spitze und damit zur Verminderung der Adsorptionsenergie proportional zu  $F_A$  (s. Abb. 10). Bei einem bestimmten Abstand zwischen Spitze und Unterlage, der als Gleichgewichtsabstand  $d_{eq}$  bezeichnet wird, entspricht die Adsorptionsenergie dem Wert, der erwartet wird, wenn die Kette vollständig auf dem Substrat adsorbiert wäre:  $d_{eq} = l_{ads} \cdot (1 - F_S/F_A)$ . Führt die Spitze nunmehr weiter zurück und vergrößert den Abstand zur Oberfläche, ist die Desorption von Monomeren von der AFM-Spitze energetisch nicht mehr bevorzugt gegenüber der vollständigen Adsorption auf der Unterlage, d.h. gegenüber der kompletten Freisetzung des adsorbierten Segments von der AFM-Spitze. Gleichwohl ist die „metastabile“ Desorption weiterhin wahrscheinlich, da der adsorbierte und der freigesetzte Zustand durch eine Energiebarriere getrennt sind, die durch thermische Fluktuationen überwunden werden muss. Die Wahrscheinlichkeit zum Überwinden der Barriere wird dabei aufgrund der Proportionalität von Barrierenhöhe und Anzahl adsorbierter Monomere durch fortgeführte Desorption von Monomeren von der Spitze erhöht.

In dem Abstandsbereich  $d > d_{eq}$  tritt demnach zu der kontinuierlichen Desorption von Mo-

<sup>P</sup> Allein in Deutschland wurden 2003 ca. 6 Mio. Tonnen Klebstoffe, Lacke und Harze hergestellt.<sup>11</sup>



**Abbildung 10.** Modell zur differentiellen Adhäsion. Aufgetragen ist die Adsorptionsenergie gegen den Abstand der beiden Oberflächen mit denen das Polymer wechselwirken kann. Im Bereich metastabiler Desorption konkurrieren beide Oberflächen um das Polymer, welches dadurch aus energetischen Gründen vollständig auf eine Oberfläche adsorbieren kann, wodurch die Überbrückung verloren geht. Dies zeigt sich bei Desorptionsmessungen als Änderung der scheinbaren Polymerlänge.

nomeren im Gleichgewicht der Nichtgleichgewichtsprozess der vollständigen Freisetzung des adsorbierten Segments von der AFM-Spitze hinzu. Je ähnlicher die beiden Oberflächen bezüglich ihrer Adhäsionsstärke des Polymers sind, desto mehr ist die Brückenlänge zu kürzeren Werten verschoben und weist eine breitere Verteilung auf.

## 6.2 Ergebnisse

Die mit Desorptionsexperimenten an gepfropften Polymermonolagen gemessenen Brückenlängen hängen sowohl von der Wechselwirkung des Polymers mit der Unterlage  $F_S$  als auch von der Wechselwirkung mit der AFM-Spitze  $F_A$  ab. Bei stärkerer Adhäsion an der AFM-Spitze als an der Oberfläche ( $F_A > F_S$ ) wird im Experiment das Polymer mit seiner gesamten Länge  $l_c$  auf der AFM-Spitze adsorbieren, da hierdurch die Adsorptionsenthalpie maximiert wird, d.h.  $l_{ads} = l_c$ . Dieser Fall konnte mit goldbedampften Spitzen

realisiert werden, die ermittelte Verteilung der Brückenlängen entspricht dann der Molekulargewichtsverteilung (s. 5.2). Wenn jedoch die Adhäsion an der Unterlage die an der AFM-Spitze überwiegt, wird das Polymer versuchen seine Oberflächenbedeckung zu maximieren. Bei den gegebenen Adsorptionsenthalpien von  $10\text{-}20\ k_B T$  wird eine vorwiegend 2d-Konformation die Folge sein. Übersteigt diese Bedeckung jedoch eine Monolage ist keine freie Fläche auf der Unterlage vorhanden und das Polymer wird nur zum Teil auf der Oberfläche adsorbieren können und einen in die Lösung ragenden Bereich aufweisen. Im Desorptionsexperiment wird lediglich dieser freie Teil an die Spitze adsorbieren, d.h.  $l_{ads} < l_c$ .

In diesem Modell ergibt sich insbesondere eine Abhängigkeit der Brückenlänge von der Dichte der Polymere auf der Unterlage. Eine höhere Dichte sollte die freie Fläche auf der Unterlage reduzieren und den freien Teil des Polymers verlängern, so dass ebenfalls eine größere Brückenlänge beobachtet werden müsste. Dieser Zusammenhang konnte durch die Verwendung von Polymermonolagen verschiedener Pfropfdichte erfolgreich bestätigt werden. Eine quantitative Beschreibung gelang ebenfalls, indem, basierend auf dem End-zu-End-Abstand des Rouse-Zimm-Modells für Polymere, die auf der Unterlage adsorbierte Länge berechnet wurde.

Ausgehend von der Dichteabhängigkeit der Länge des an der Spitze adhärenen Segments  $l_{ads}$  können Verkürzungen der Brückenlänge, die sich zum Beispiel als Folge einer Änderung des pH-Werts der Lösung ergeben (s. 5.2), mit dem Modell für differentielle Adhäsion beschrieben werden.



## 7 Polypeptid-Mineral-Wechselwirkungen

Biomaterialien sind Zusammensetzungen aus Mineralkristallen und organischen Molekülen, die sich durch außergewöhnliche Materialeigenschaften und hierarchische Organisation auszeichnen.<sup>9,91–95</sup> In der Natur reicht das breite Anwendungsspektrum von mechanischem Schutz bei Muschelschalen, Navigation bei magnetotaktischen Bakterien bis zu Werkzeugen und Waffen bei Krebszellen.

Mineralien sind oft starr und spröde, Biomaterialien hingegen gleichzeitig extrem bruchfest und elastisch. Sie gelten daher als Vorbilder für zukünftige Materialien. In Muschelschalen beispielsweise führen die Wechselwirkungen von Calcit und Biopolymeren dazu, dass Risse sich nur schwer ausbreiten können - eine Eigenschaft, die zum Beispiel für Beton enorme Bedeutung besitzt. Für industrielle Anwendungen liegen weitere Vorteile auf der Hand, da Biomaterialisationsprozesse in wässrigen, d.h. umweltfreundlichen Medien und auf biologische, energieeffiziente Weise ablaufen.

Diese außergewöhnlichen Materialeigenschaften sind das Resultat einer präzisen Kontrolle der Kristallisation und Selbstorganisation durch lösliche und unlösliche biologische Moleküle. Viele der löslichen organischen Polymere, die aus Biomaterialien extrahiert wurden, sind dabei auffallend sauer. So enthalten Matrixproteine in Biomaterialien gewöhnlich 30-40 mol% der Aminosäurereste Asparaginsäure (D) oder Glutaminsäure (E). Diese wiederum können mit Calcium wechselwirken, was die Grundlage für viele Biomaterialien wie Calciumcarbonate (z.B. Calcit) oder -phosphate (Apatit) darstellt.

Saure Makromoleküle spielen wahrscheinlich eine Schlüsselrolle in Biomaterialisationsprozessen, allerdings mangelt es an Wissen über die Struktur der Moleküle und ihre Wechselwirkung mit der Mineraloberfläche. Daher wurden bisher zahlreiche synthetische Polymere hergestellt und deren Auswirkungen auf den Kristallisationsprozess der Mineralien untersucht. Einige Additive sind in der Lage während des Kristallwachstums Nichtgleichgewichtsformen zu stabilisieren und somit die Kristallisation zu kontrollieren. Besonders aussichtsreich sind in diesem Zusammenhang sogenannte doppelhydrophile Blockcopolymere. Um solche Prozesse allerdings gezielt steuern und anorganische Strukturen mit biomimetischen Eigenschaften definiert und vorhersagbar herstellen zu können, ist ein tieferes Verständnis der molekularen Prozesse notwendig.

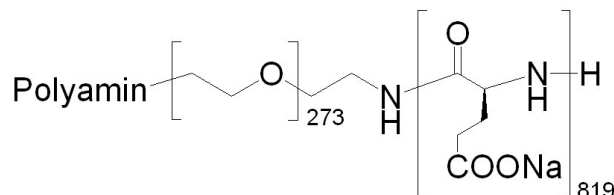
In dieser Arbeit wurde daher die Wechselwirkung eines doppelhydrophilen Blockcopolymers, dessen einer Block von einem sauren Polypeptid aus Glutaminsäure gebildet wird, mit verschiedenen Calcit-Kristallflächen eingehender untersucht.

### 7.1 Experimenteller Teil

*Die Synthese der doppelhydrophilen Blockcopolymere wurde in der Gruppe von Dr. Helmut Schlaad und die Herstellung der Calcit-Hochenergiekristallflächen in der Gruppe von Dr. Helmut Cölfen durchgeführt, Kolloidchemie (Prof. Antonietti), Max-Planck-Institut*

für Kolloid- und Grenzflächenforschung, Wissenschaftscampus Golm, D-14424 Potsdam.

**Doppelhydrophile Blockcopolymere (PEO-*b*-PLE)** Die verwendeten Polymere sind doppelhydrophile Blockcopolymere, die aus Polyethylenoxid (PEO) und Poly(L-Glutaminsäure) (PLE) aufgebaut sind. Hinzu kommt ein Polyaminblock, über den das Polymer kovalent an die AFM-Spitze gebunden wird.



**Abbildung 11.** Struktur des verwendeten doppelhydrophilen Blockcopolymers PEO-*b*-PLE, bei dem der Polyaminblock zur kovalenten Anbindung an die AFM-Spitze dient. Das Natriumcarboxylat dissoziiert in wässrigen Lösungen.

**Calcit** Calcit oder Kalkspat ist die am häufigsten vorkommende kristalline Form von Calciumcarbonat  $\text{CaCO}_3^{\text{Q}}$  und kommt in der Natur unter anderem in Muscheln, Schnecken, Korallen oder Eierschalen von Vögeln vor. Calcit ist üblicherweise rhombisch aufgebaut, der Rhomboeder wird dabei von sechs (104) Kristallflächen<sup>R</sup> begrenzt. Calcit kann mechanisch sehr leicht gespalten werden, wobei die Spaltfläche stets eine (104) Orientierung zeigt, die sich aus alternierenden Ca-Atomen und  $\text{CO}_3$ -Gruppen zusammensetzt. An der Spaltfläche selber sind die Ca und  $\text{CO}_3$  nicht mehr wie im Kristall oktaedrisch koordiniert, sondern baumelnde Bindungen (*dangling bonds*) treten hier auf und müssen berücksichtigt werden. Experimentelle Daten und theoretische Berechnungen zeigen, dass sich als Folge die obersten Kristallebenen in Form von Rotationen der  $\text{CO}_3$ -Gruppen sowie lateralen und vertikalen Versetzungen der Ca-Atome und  $\text{CO}_3$ -Gruppen rekonstruieren.<sup>97,98</sup> Eine stark gebundene Schicht adsorbierter Wassermoleküle scheint in der Lage zu sein die Oberfläche zu stabilisieren.<sup>99–102</sup> Auf der Calcit (104) Spaltfläche sollte also eine Hydratationsschicht zu finden sein.

Strukturell sehr ähnlich zu der (104) Spaltfläche ist die (100) Kristallfläche, die ebenfalls von alternierenden Ca-Atomen und  $\text{CO}_3$ -Gruppen gebildet wird und im Vergleich zur (104) Fläche lediglich einen größeren Abstand zwischen Ca und  $\text{CO}_3$  sowie eine unterschiedliche Orientierung der  $\text{CO}_3$ -Gruppen zeigt. Im Gegensatz dazu ist die (012) Fläche stark geladen, d.h. eine sogenannte Hochenergiekristallfläche, die entweder von einer Lage

<sup>Q</sup>Ähnliche Calciumcarbonate sind Aragonit und Vaterit.

<sup>R</sup>(hkl) sind die Millerschen Indices, die die Kristallflächen oder Netzebenen bei vorgegebenen Kristallachsen kennzeichnen.<sup>96</sup>

Ca-Atome oder CO<sub>3</sub>-Gruppen abgeschlossen wird.<sup>S</sup>

**Desorptionsmessungen** Zur Durchführung der Desorptionsmessungen wurden einzelne PEO-*b*-PLE Polymere an eine AFM-Spitze angebunden.<sup>T</sup> Dabei zeigte sich, dass die Verwendung eines Polyaminblocks zur Polymeranbindung an die Spitze sowohl eine sehr gute Anbindungseffizienz als auch eine hervorragende Langzeitstabilität bietet. Der Ablauf eines Desorptionsexperiments entspricht dem in Abschnitt 4.2 beschriebenen. Als feste Oberflächen, mit denen das Polymer wechselwirkt, wurden verschiedene Calcitflächen verwendet. In den Kraft-Abstands-Kurven kann eine Änderung der Desorptionskraft beim Übergang zwischen den beiden Blöcken des Polymers beobachtet werden, die zeigt dass die Desorptionskraft für PEO einige pN geringer ist als die für PLE. Die Messungen erlauben also, insbesondere die Wechselwirkung beider Blöcke sowie den Übergang in einem Experiment zu untersuchen.

## 7.2 Ergebnisse

**(Elektrostatische) Wechselwirkungen zwischen PLE und Calcit** Die mit Desorptionsexperimenten für verschiedene pH-Werte zwischen pH 6 und 11 einer wässrigen Lösung mit 10 mM CaCl<sub>2</sub> ermittelten Desorptionskräfte zwischen PLE und Calcit zeigen eine Glockenkurve mit einem Maximum bei pH 8.6. Die Desorptionskräfte bei pH 6 und 11 sind dabei identisch (65 pN) und am Maximum um etwa 4 pN erhöht. Dies entspricht einem repulsiven Beitrag zur Desorptionskraft, der nur im Fall der ungeladenen Oberfläche<sup>103,104</sup> um pH 8.6 verschwindet. Diese Beobachtung unterstreicht das komplexe Zusammenspiel verschiedener molekularer Wechselwirkungen in Biomineralien. Neben elektrostatischen Wechselwirkungen muß insbesondere der Einfluß der Ca<sup>2+</sup>-Ionen der Lösung berücksichtigt werden, da diese unter anderem an PLE binden können.<sup>105,106</sup>

Die Desorptionskräfte zwischen PLE und Calcit in Abhängigkeit von der Ca<sup>2+</sup>-Konzentration der Lösung zeigen ein von elektrostatischen Wechselwirkungen bestimmtes Verhalten. Dabei sind sowohl die elektrostatische Abschirmung als auch die von der Salzkonzentration der Lösung abhängige Ladungsdichte des Polymers einzubeziehen. Die beobachteten Kraftunterschiede liegen in der Größenordnung von 10 pN.

Die Sensitivität der Desorptionsmessungen zeigte sich insbesondere bei den Experimenten mit veränderter Ca<sup>2+</sup>-Konzentration, da signifikante Unterschiede zwischen der Calcit (104) und (100) Kristallfläche beobachtet werden konnten, obwohl sich diese strukturell nur geringfügig unterscheiden.

---

<sup>S</sup>Solche Hochenergiekristallflächen lassen sich beispielsweise durch Kristallwachstum auf bestimmten selbstorganisierenden Monolagen herstellen. Es werden dabei trianguläre Formen gebildet, verschiedene Kristallflächen können anhand der Winkel im Dreieck unterschieden werden.

<sup>T</sup>Dazu wurden auf einer Siliciumnitrid-Spitze durch Aufbringen einer Monolage eines Silans reaktive Epoxy-Gruppen erzeugt, die kovalente Bindungen mit den Aminogruppen des Polyaminblocks des Polymers bilden.

**Rekonstruktion additivfreier Hochenergiekristallflächen von Calcit** Desorptionsmessungen wurden auch an der Hochenergiekristallfläche Calcit (012) in wässriger Lösung durchgeführt. Dabei wurden identische Desorptionskräfte wie für Calcit (104) erhalten, was angesichts der Tatsache, dass sogar die Flächen (104) und (100) Unterschiede in der Desorptionskraft zeigen, einen deutlichen Hinweis für eine Rekonstruktion der (012) in eine (104) Fläche darstellt. Ein solches Verhalten ist zwar nach Wulffs Regel, die besagt, dass Kristallflächen niedriger Oberflächenenergie in der Gleichgewichtsmorphologie exponiert werden, zu erwarten, aber prinzipiell unter Gesichtspunkten der Biomineralisation von Bedeutung, da Polymeradditive diese Hochenergiekristallflächen stabilisieren können. In trockener Umgebung oder schlechten Lösungsmitteln findet keine Rekonstruktion statt.

## Literatur

- [1] H.G. Elias: *Anwendungen von Polymeren*, Band 4 von *Makromoleküle*. 6. Auflage. Wiley-VCH, Weinheim, 2003.
- [2] H. Boroudjerdi, Y.W. Kim, A. Naji, R.R. Netz, X. Schlagberger und A. Serr: *Statics and dynamics of strongly charged soft matter*, *Physics Reports-Review Section of Physics Letters* **416** (2005), 129.
- [3] S. Minko und Y. Roiter: *AFM single molecule studies of adsorbed polyelectrolytes*, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **10** (2005), 9.
- [4] T. Hugel und M. Seitz: *The study of molecular interactions by AFM force spectroscopy*, *Macromolecular Rapid Communications* **22** (2001), 989.
- [5] T. Hugel, M. Grosholz, H. Clausen-Schaumann, A. Pfau, H.E. Gaub und M. Seitz: *Elasticity of single polyelectrolyte chains and their desorption from solid supports studied by AFM based single molecule force spectroscopy*, *Macromolecules* **34** (2001), 1039.
- [6] M. Seitz, C. Friedsam, W. Jöstl, T. Hugel und H.E. Gaub: *Probing solid surfaces with single polymers*, *ChemPhysChem* **4** (2003), 986.
- [7] C. Friedsam, A. Del Campo Bécáres, U. Jonas, M. Seitz und H.E. Gaub: *Adsorption of polyacrylic acid on self-assembled monolayers investigated by single-molecule force spectroscopy*, *New Journal of Physics* **6** (2004).
- [8] C. Friedsam, H.E. Gaub und R.R. Netz: *Adsorption energies of single charged polymers*, *Europhysics Letters* **72** (2005), 844.
- [9] H.A. Lowenstam und S. Weiner: *On Biomineralization*. Oxford University Press, New York, 1989.
- [10] H. Morawetz: *Difficulties in the Emergence of the Polymer Concept - an Essay*, *Angewandte Chemie-International Edition* **26** (1987), 93.
- [11] [www.vke.de](http://www.vke.de) (Verband kunststofferzeugender Industrie).
- [12] P.J. Flory: *Principles of Polymer Chemistry*. Cornell Univ. Press, Ithaca, 1953.
- [13] P.G. de Gennes: *Scaling Concepts in Polymer Physics*. Cornell Univ. Press, Ithaca, 1979.
- [14] M. Doi und S. Edwards: *The Theory of Polymer Dynamics*. Clarendon Press, Oxford, 1988.

- [15] J. des Cloizeaux und G. Jannink: *Polymers in solution: their modelling and structure*. Clarendon Press, Oxford, 1990.
- [16] A. Grosberg und A. Chochlov: *Statistical physics of macromolecules*. AIP Press, Woodbury, NY, 1994.
- [17] M. Doi: *Introduction to Polymer Physics*. Clarendon Press, Oxford, 1995.
- [18] M. Rubinstein und R.H. Colby: *Polymer Physics*. Oxford University Press, Oxford, 2003.
- [19] H.G. Elias: *Industrielle Polymere und Synthesen*, Band 3 von *Makromoleküle*. 6. Auflage. Wiley-VCH, Weinheim, 2001.
- [20] O. Kratky und G. Porod: *Röntgenuntersuchung gelöster Fadenmoleküle*, *Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas-Journal of the Royal Netherlands Chemical Society* **68** (1949), 1106.
- [21] H.B. Li, B.B. Liu, X. Zhang, C.X. Gao, J.C. Shen und G.T. Zou: *Single-molecule force spectroscopy on poly(acrylic acid) by AFM*, *Langmuir* **15** (1999), 2120.
- [22] C. Rivetti, C. Walker und C. Bustamante: *Polymer chain statistics and conformational analysis of DNA molecules with bends or sections of different flexibility*, *Journal of Molecular Biology* **280** (1998), 41.
- [23] S.B. Smith, Y.J. Cui und C. Bustamante: *Overstretching B-DNA: The elastic response of individual double-stranded and single-stranded DNA molecules*, *Science* **271** (1996), 795.
- [24] C. Bustamante, J.F. Marko, E.D. Siggia und S. Smith: *Entropic Elasticity of Lambda-Phage DNA*, *Science* **265** (1994), 1599.
- [25] A. Ott, M. Magnasco, A. Simon und A. Libchaber: *Measurement of the Persistence Length of Polymerized Actin Using Fluorescence Microscopy*, *Physical Review E* **48** (1993), R1642.
- [26] F. Gittes, B. Mickey, J. Nettleton und J. Howard: *Flexural Rigidity of Microtubules and Actin-Filaments Measured from Thermal Fluctuations in Shape*, *Journal of Cell Biology* **120** (1993), 923.
- [27] H. Dautzenberg, W. Jaeger, J. Kötz, B. Philipp, C. Seidel und D. Stscherbina: *Polyelectrolytes: formation, characterization and application*. Hanser, Munich, 1994.
- [28] F. Oosawa: *Polyelectrolytes*. M. Dekker, New York, 1971.

- 
- [29] S. Förster und M. Schmidt. In *Physical Properties of Polymers*, Band 120 von *Advances in Polymer Science* (1995), Seiten 51–133.
- [30] J.L. Barrat und J.F. Joanny. In *Advances in Chemical Physics*, Band 94 von *Advances in Chemical Physics* (1996), Seiten 1–66.
- [31] C. Holm, J.F. Joanny, K. Kremer, R.R. Netz, P. Reineker, C. Seidel, T.A. Vilgis und R.G. Winkler. In *Polyelectrolytes with Defined Molecular Architecture II*, Band 166 von *Advances in Polymer Science* (2004), Seiten 67–111.
- [32] Y. Zubavicus und M. Grunze: *New insights into the structure of water with ultrafast probes*, *Science* **304** (2004), 974.
- [33] P. Debye und E. Hückel: *The theory of electrolytes I. The lowering of the freezing point and related occurrences*, *Physikalische Zeitschrift* **24** (1923), 185.
- [34] T. Zito und C. Seidel: *Equilibrium charge distribution on annealed polyelectrolytes*, *European Physical Journal E* **8** (2002), 339.
- [35] H. Morawetz: *Macromolecules in solution*, Band 21 von *High Polymer*. 2. Auflage. Interscience Publishers, New York, 1975.
- [36] G. Kortüm, W. Vogel und K. Andrussov: *Dissociation Constants of Organic Acids in Aqueous Solutions*. Butterworths, London, 1961.
- [37] H.P. Gregor und M. Frederick: *Potentiometric Titration of Polyacrylic and Polymethacrylic Acids with Alkali Metal and Quaternary Ammonium Bases*, *Journal of Polymer Science* **23** (1957), 451.
- [38] M.A. Cohen Stuart, T. Cosgrove und B. Vincent: *Experimental Aspects of Polymer Adsorption at Solid-Solution Interfaces*, *Advances in Colloid and Interface Science* **24** (1986), 143.
- [39] P.G. de Gennes: *Polymers at an Interface - a Simplified View*, *Advances in Colloid and Interface Science* **27** (1987), 189.
- [40] R.R. Netz und D. Andelman: *Neutral and charged polymers at interfaces*, *Physics Reports-Review Section of Physics Letters* **380** (2003), 1.
- [41] A.V. Dobrynin und M. Rubinstein: *Theory of polyelectrolytes in solutions and at surfaces*, *Progress in Polymer Science* **30** (2005), 1049.
- [42] S. Biggs und P. Mulvaney: *Measurement of the Forces between Gold Surfaces in Water by Atomic-Force Microscopy*, *Journal of Chemical Physics* **100** (1994), 8501.

- [43] L. Bergström: *Hamaker constants of inorganic materials*, *Advances in Colloid and Interface Science* **70** (1997), 125.
- [44] R.R. Netz und J.F. Joanny: *Complexation behavior of polyampholytes and charged objects*, *Macromolecules* **31** (1998), 5123.
- [45] R.R. Netz und J.F. Joanny: *Adsorption of semiflexible polyelectrolytes on charged planar surfaces: Charge compensation, charge reversal, and multilayer formation*, *Macromolecules* **32** (1999), 9013.
- [46] A.F. Xie und S. Granick: *Phospholipid membranes as substrates for polymer adsorption*, *Nature Materials* **1** (2002), 129.
- [47] S.E. Burke und C.J. Barrett: *Acid-base equilibria of weak polyelectrolytes in multilayer thin films*, *Langmuir* **19** (2003), 3297.
- [48] M. Uematsu und E.U. Franck: *Static Dielectric-Constant of Water and Steam*, *Journal of Physical and Chemical Reference Data* **9** (1980), 1291.
- [49] D.A. Robinson: *Measurement of the solid dielectric permittivity of clay minerals and granular samples using a time domain reflectometry immersion method*, *Vadose Zone Journal* **3** (2004), 705.
- [50] G.N. Parsons, J.H. Souk und J. Batey: *Low Hydrogen Content Stoichiometric Silicon-Nitride Films Deposited by Plasma-Enhanced Chemical Vapor-Deposition*, *Journal of Applied Physics* **70** (1991), 1553.
- [51] R.R. Netz: *Debye-Hückel theory for interfacial geometries*, *Physical Review E* **60** (1999), 3174.
- [52] R.R. Netz: *Charge regulation of weak polyelectrolytes at low- and high-dielectric-constant substrates*, *Journal of Physics-Condensed Matter* **15** (2003), S239.
- [53] J.O. Bockris und S.U.M. Khan: *Surface electrochemistry: a molecular level approach*. Plenum Press, New York, 1993.
- [54] A.V. Delgado, E. Gonzalez-Caballero, R.J. Hunter, L.K. Koopal und J. Lyklema: *Measurement and interpretation of electrokinetic phenomena - (IUPAC technical report)*, *Pure and Applied Chemistry* **77** (2005), 1753.
- [55] B. Cappella und G. Dietler: *Force-distance curves by atomic force microscopy*, *Surface Science Reports* **34** (1999), 1.
- [56] G. Binnig, C.F. Quate und C. Gerber: *Atomic Force Microscope*, *Physical Review Letters* **56** (1986), 930.



- [57] F. Ritort: *Single-molecule experiments in biological physics: methods and applications*, *Journal of Physics-Condensed Matter* **18** (2006), R531.
- [58] A. Janshoff, M. Neitzert, Y. Oberdörfer und H. Fuchs: *Force spectroscopy of molecular systems - Single molecule spectroscopy of polymers and biomolecules*, *Angewandte Chemie-International Edition* **39** (2000), 3213.
- [59] M.B. Viani, T.E. Schaffer, A. Chand, M. Rief, H.E. Gaub und P.K. Hansma: *Small cantilevers for force spectroscopy of single molecules*, *Journal of Applied Physics* **86** (1999), 2258.
- [60] S.B. Smith, L. Finzi und C. Bustamante: *Direct Mechanical Measurements of the Elasticity of Single DNA-Molecules by Using Magnetic Beads*, *Science* **258** (1992), 1122.
- [61] A. Ashkin, K. Schutze, J.M. Dziedzic, U. Euteneuer und M. Schliwa: *Force Generation of Organelle Transport Measured In vivo by an Infrared-Laser Trap*, *Nature* **348** (1990), 346.
- [62] M.P. Sheetz: *Laser tweezers in cell biology*. Acad. Press, San Diego, 1998.
- [63] A. Kishino und T. Yanagida: *Force Measurements by Micromanipulation of a Single Actin Filament by Glass Needles*, *Nature* **334** (1988), 74.
- [64] E. Evans, K. Ritchie und R. Merkel: *Sensitive Force Technique to Probe Molecular Adhesion and Structural Linkages at Biological Interfaces*, *Biophysical Journal* **68** (1995), 2580.
- [65] H. Clausen-Schaumann, M. Seitz, R. Krautbauer und H.E. Gaub: *Force spectroscopy with single bio-molecules*, *Current Opinion in Chemical Biology* **4** (2000), 524.
- [66] E.L. Florin, V.T. Moy und H.E. Gaub: *Adhesion Forces between Individual Ligand-Receptor Pairs*, *Science* **264** (1994), 415.
- [67] G.U. Lee, L.A. Chrisey und R.J. Colton: *Direct Measurement of the Forces between Complementary Strands of DNA*, *Science* **266** (1994), 771.
- [68] E. Evans und K. Ritchie: *Dynamic strength of molecular adhesion bonds*, *Biophysical Journal* **72** (1997), 1541.
- [69] G.I. Bell: *Models for Specific Adhesion of Cells to Cells*, *Science* **200** (1978), 618.
- [70] S. Izrailev, S. Stepaniants, M. Balsera, Y. Oono und K. Schulten: *Molecular dynamics study of unbinding of the avidin-biotin complex*, *Biophysical Journal* **72** (1997), 1568.

- [71] M. Balsera, S. Stepaniants, S. Izrailev, Y. Oono und K. Schulten: *Reconstructing potential energy functions from simulated force-induced unbinding processes*, *Biophysical Journal* **73** (1997), 1281.
- [72] B. Heymann und H. Grubmüller: *Dynamic force spectroscopy of molecular adhesion bonds*, *Physical Review Letters* **84** (2000), 6126.
- [73] E. Evans: *Looking inside molecular bonds at biological interfaces with dynamic force spectroscopy*, *Biophysical Chemistry* **82** (1999), 83.
- [74] M. Grandbois, M. Beyer, M. Rief, H. Clausen-Schaumann und H.E. Gaub: *How strong is a covalent bond?*, *Science* **283** (1999), 1727.
- [75] M. Rief, M. Gautel, F. Oesterhelt, J.M. Fernandez und H.E. Gaub: *Reversible unfolding of individual titin immunoglobulin domains by AFM*, *Science* **276** (1997), 1109.
- [76] X.W. Zhuang und M. Rief: *Single-molecule folding*, *Current Opinion in Structural Biology* **13** (2003), 88.
- [77] M.C. Williams und I. Rouzina: *Force spectroscopy of single DNA and RNA molecules*, *Current Opinion in Structural Biology* **12** (2002), 330.
- [78] H.G. Hansma, K. Kasuya und E. Oroudjev: *Atomic force microscopy imaging and pulling of nucleic acids*, *Current Opinion in Structural Biology* **14** (2004), 380.
- [79] M. Rief, F. Oesterhelt, B. Heymann und H.E. Gaub: *Single molecule force spectroscopy on polysaccharides by atomic force microscopy*, *Science* **275** (1997), 1295.
- [80] T. Hugel, N.B. Holland, A. Cattani, L. Moroder, M. Seitz und H.E. Gaub: *Single-molecule optomechanical cycle*, *Science* **296** (2002), 1103.
- [81] T.J. Senden, J.M. di Meglio und P. Auroy: *Anomalous adhesion in adsorbed polymer layers*, *European Physical Journal B* **3** (1998), 211.
- [82] X. Châtellier, T.J. Senden, J.F. Joanny und J.M. di Meglio: *Detachment of a single polyelectrolyte chain adsorbed on a charged surface*, *Europhysics Letters* **41** (1998), 303.
- [83] D. Napper: *Polymeric Stabilization of Colloidal Dispersion*. Academic Press, New York, 1983.
- [84] J. Rühe, M. Ballauff, M. Biesalski, P. Dziezok, F. Gröhn, D. Johannsmann, N. Houbenov, N. Hugenberg, R. Konradi, S. Minko, M. Motornov, R.R. Netz, M. Schmidt, C. Seidel, M. Stamm, T. Stephan, D. Usov und H.N. Zhang. In *Polyelectrolytes*

- with Defined Molecular Architecture I*, Band 165 von *Advances in Polymer Science* (2004), Seiten 79–150.
- [85] J. Parvole, J.P. Montfort, G. Reiter, O. Borisov und L. Billon: *Elastomer polymer brushes on flat surface by bimolecular surface-initiated nitroxide mediated polymerization*, *Polymer* **47** (2006), 972.
- [86] B. Trathnigg: *Determination of MWD and Chemical-Composition of Polymers by Chromatographic Techniques*, *Progress in Polymer Science* **20** (1995), 615.
- [87] M. Erdmann: *Untersuchung statischer und dynamischer Eigenschaften von adsorbierten Polymeren unter Krafteinfluß*. Ludwig-Maximilians-Universität München, Diplomarbeit, 2006.
- [88] F. Kühner, M. Erdmann, L. Sonnenberg, A. Serr, J. Morfill und H.E. Gaub: *Friction of single polymers at surfaces*, *Langmuir* **22** (2006), 11180.
- [89] E. Raphael und J.F. Joanny: *Annealed and Quenched Polyelectrolytes*, *Europhysics Letters* **13** (1990), 623.
- [90] E.B. Zhulina, O.V. Borisov, J. van Male und F.A.M. Leermakers: *Adsorption of tethered polyelectrolytes onto oppositely charged solid-liquid interfaces*, *Langmuir* **17** (2001), 1277.
- [91] K. Simkiss und K.M. Wilbur: *Biomineralization: cell biology and mineral deposition*. Academic Press, San Diego, 1989.
- [92] L. Addadi und S. Weiner: *Control and Design Principles in Biological Mineralization*, *Angewandte Chemie-International Edition* **31** (1992), 153.
- [93] P. Ball: *The Self Made Tapestry: Pattern Formation in Nature*. Oxford University Press, Oxford, 1999.
- [94] S. Mann: *The chemistry of form*, *Angewandte Chemie-International Edition* **39** (2000), 3393.
- [95] C. Pietschmann, O. Meckes und N. Ottawa: *Biominerale: Mit dem Dreh der Natur*, *GEO* (2006).
- [96] C. Kittel: *Einführung in die Festkörperphysik*. 12. Auflage. Oldenbourg, München, 1999.
- [97] S.L.S. Stipp: *Toward a conceptual model of the calcite surface: Hydration, hydrolysis, and surface potential*, *Geochimica Et Cosmochimica Acta* **63** (1999), 3121.

- 
- [98] K. Wright, R.T. Cygan und B. Slater: *Structure of the  $(10\bar{1}4)$  surfaces of calcite, dolomite and magnesite under wet and dry conditions*, *Physical Chemistry Chemical Physics* **3** (2001), 839.
- [99] P. Fenter, P. Geissbühler, E. DiMasi, G. Srajer, L.B. Sorensen und N.C. Sturchio: *Surface speciation of calcite observed in situ by high-resolution X-ray reflectivity*, *Geochimica Et Cosmochimica Acta* **64** (2000), 1221.
- [100] P. Geissbühler, P. Fenter, E. DiMasi, G. Srajer, L.B. Sorensen und N.C. Sturchio: *Three-dimensional structure of the calcite-water interface by surface X-ray scattering*, *Surface Science* **573** (2004), 191.
- [101] N.H. de Leeuw und S.C. Parker: *Atomistic simulation of the effect of molecular adsorption of water on the surface structure and energies of calcite surfaces*, *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions* **93** (1997), 467.
- [102] S. Kerisit, S.C. Parker und J.H. Harding: *Atomistic simulation of the dissociative adsorption of water on calcite surfaces*, *Journal of Physical Chemistry B* **107** (2003), 7676.
- [103] P. Moulin und H. Roques: *Zeta potential measurement of calcium carbonate*, *Journal of Colloid and Interface Science* **261** (2003), 115.
- [104] H. Churchill, H. Teng und R.M. Hazen: *Correlation of pH-dependent surface interaction forces to amino acid adsorption: Implications for the origin of life*, *American Mineralogist* **89** (2004), 1048.
- [105] B. Kriwet und T. Kissel: *Interactions between bioadhesive poly(acrylic acid) and calcium ions*, *International Journal of Pharmaceutics* **127** (1996), 135.
- [106] F. Madsen und N.A. Peppas: *Complexation graft copolymer networks: swelling properties, calcium binding and proteolytic enzyme inhibition*, *Biomaterials* **20** (1999), 1701.

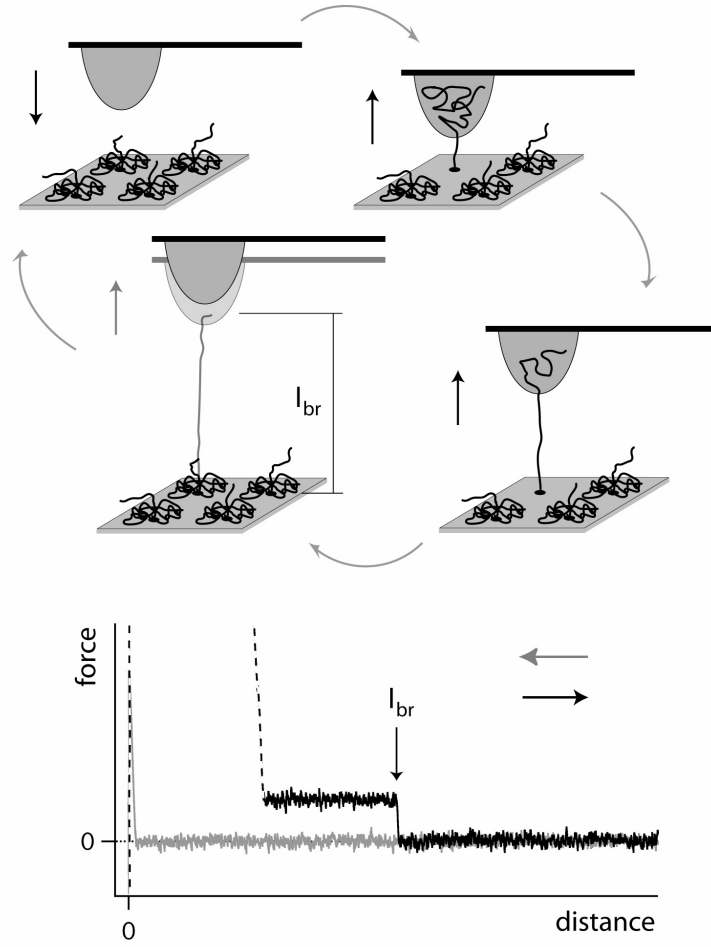
# A Competitive Adhesion of Single Polymer Chains Bridging two Surfaces

Lars Sonnenberg, Laurent Billon and Hermann E. Gaub

The interaction of polymers with interfaces comprises a richness of fundamental science phenomena and at the same time is of utmost technological importance.<sup>1,2</sup> A broad spectrum of industrial applications e.g. in novel materials heavily relies on polymers bridging adjacent surfaces.<sup>3,4</sup> In dispersions polymers are employed to stabilize colloidal particles in solution via steric and/or electrostatic repulsion. They also may clot particles together, i.e. filter unwanted particles out, via polymer bridges.<sup>5–10</sup> Such polymers are frequently end-grafted to the particle surface to enhance long-term stability and to prevent the polymer from desorbing at low interaction strength.<sup>11–14</sup> Particularly interesting properties with many applications in smart materials may be achieved when the interaction/bridging properties can be tuned by external stimuli. Using polyelectrolytes (PELs) for such purposes allows the manipulation of electrostatic interactions by varying the salt concentration and/or pH of the aqueous solution.<sup>1,2,15</sup>

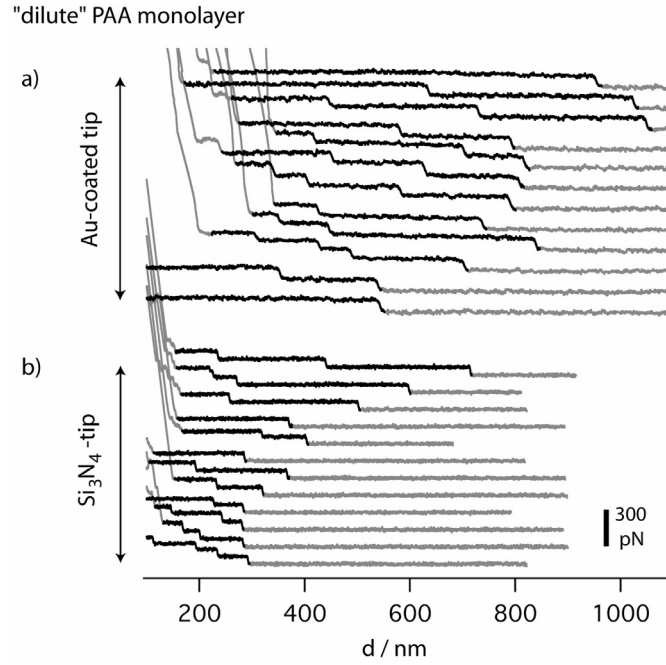
In this study we investigated the bridging of individual PEL chains, which were end-grafted to a planar silicon oxide surface. As counter-surface we offer the polymer the blunt tip of an AFM-cantilever (see Figure 1). The interaction forces were measured with pN-precision and the bridging lengths with nm-accuracy at the level of single molecules.<sup>16–18</sup> By modification of the surface chemistry of the tip or by metal evaporation we altered the interaction with the polymer and explored the vertical structure of the adsorbate film.

In several studies with different polymers<sup>24,25</sup> we found in the past that the measured bridging lengths depend on both the properties of the surfaces and the ambient conditions. This made us investigate this phenomenon on a well-defined sample<sup>26</sup> with end-grafted PELs. Figure 2 shows several representative force-distance curves from desorption measurements performed on a poly(acrylic acid) (PAA) monolayer. In Figure 2a a gold-coated AFM tip and in Figure 2b a bare silicon nitride tip were used. The average number of plateaus, i.e. the number of adhered polymers, were found to be comparable, but the desorption force for the PAA chains from the gold-coated tip ( $95 \pm 2$  pN) clearly exceeded the desorption force from the silicon nitride tip ( $65 \pm 2$  pN). In addition, the observed bridging lengths were found to be correlated with the desorption force, i.e. longer plateaus were found in the case of the gold-coated AFM tip.



**Figure 1.** A single molecule desorption experiment with surface-grafted polymers by means of an AFM. When approaching the AFM-tip to the surface, polymer chains adsorb on the tip surface. Upon retracting the AFM-tip the polymer successively desorbs from the tip. As in our case here, the interaction dynamics of the adsorbed polymer is much faster than the retraction velocity of the AFM tip, the desorption process occurs under equilibrium conditions. This results in a constant speed-independent adhesion force, which equals the change in Gibbs free energy per unit length of the polymer.<sup>19–23</sup> Upon further retracting the tip, the plateau force finally drops to zero when the polymer chain detaches completely from the tip. This distance is named the bridging length  $l_{br}$ . If the grafting density is high and several polymers adhere to the tip, they may detach one after the other upon withdrawing the tip, resulting in a staircase like pattern of the force-distance records (see also Figure 2).

This finding clearly shows that the tip surface and the sample surface compete for the polymer: in the case where the adhesion to the tip is stronger than to the sample ( $F_A > F_S$ ), the entire polymer chain will adsorb onto the AFM tip as soon as the contact is formed because the adsorption enthalpy is maximized. This is what we find when we compare the



**Figure 2.** Force-distance curves measured at randomly chosen positions on a poly(acrylic acid) (PAA) monolayer grafted at a density of  $1/460 \text{ nm}^{-2}$  ("dilute" monolayer) with a gold-coated tip (a) and a silicon nitride tip (b). Both measurement series were conducted in an aqueous solution containing 100 mM NaCl at pH 6.

distribution of the measured bridging length as observed with the gold-coated tip with the length distribution of the polymers determined by Gel Permeation Chromatography (GPC-distribution) (see Figure 3a).

This excellent agreement between the bridging length measured by AFM and the contour length determined by GPC nicely demonstrates that in this regime the AFM-based technique obviously is well suited to measure the length distribution of the grafted polymers with superb precision, sensitivity and lateral resolution at a moderate experimental effort. However, these experiments also suggest that a much more detailed picture on the internal organization of the grafted polymer layer may be obtained if the adhesion between tip and polymer is gradually reduced. If the adhesion of the polymers to the sample surface is higher than to the tip ( $F_A < F_S$ ) the polymer will maximize its coverage on the sample surface. At the given adhesion enthalpies of  $10\text{-}20 k_B T/\text{Kuhn length}$  this will result in a predominantly 2d conformation as was recently shown.<sup>27</sup> However, if the coverage exceeds a monolayer, no free surface is left and the remaining segments of the polymer are dangling off the surface or, if the solvent is poor (which is not the case in our experiments here), they may interact with the adsorbed monolayer. If such a surface is probed with an AFM tip, only the dangling section of the polymer will adhere to the tip and as a consequence only this section will bridge the gap between the two surfaces upon separation. This is

what we find when we probe the same sample as in Figure 3a (“dilute” PAA monolayer) with a bare silicon nitride tip (see Figure 3b). The histogram of the bridging lengths is clearly shifted towards shorter lengths.

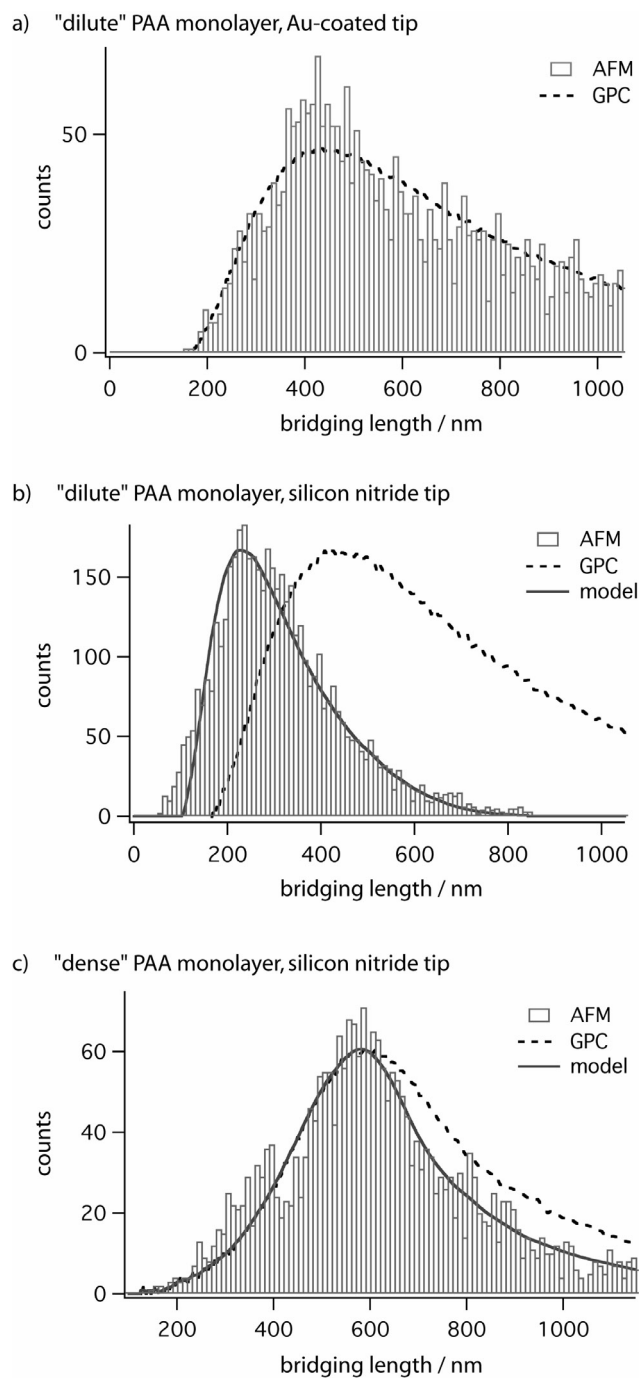
If the model discussed above holds true, an increase in grafting density should reduce the free area on the sample surface and as a result should lengthen the dangling section of the grafted polymers. This was tested with a “dense” PAA monolayer, which had a grafting density of  $\sigma_{dense} = 1/200 \text{ nm}^{-2}$ . An identical experiment as the one described above resulted in the bridging length histogram in Figure 3c, which does not fully reproduce the GPC-distribution but shows significantly longer bridging lengths than those measured on the “dilute” sample. Again, already this qualitative result demonstrates that valuable information on the vertical structure of the grafted layer may be obtained with this single molecule approach.

A quantitative description of these effects will be developed in the following. The case  $F_A > F_S$  needs no quantitative model: upon contact the entire length of the polymer is “sucked” onto the tip and the polymer bridges with its full length. In the case  $F_A < F_S$  only that section of the polymer adheres to the tip, which is not adsorbed to the sample surface. Would the lateral mobility of the polymer at the sample surface be high, adjacent polymers would compete for the bare surface and neighboring polymers would creep into voids caused by fluctuations. In this case the polymer would be displaced at the surface and would adsorb on the AFM tip with its entire length. From the findings in Figure 3 we would therefore conclude a low lateral mobility of the polymers on the sample surface. In the case of the “dilute” monolayer the average distance between the grafting points matches the end-to-end distance of the polymer in 3d. This way each polymer may in the average occupy its projection area on the sample surface. Based on the Rouse-Zimm-Model for polymers, the area which each polymer may adhere to is therefore on the order of  $A = \pi \cdot (R/2)^2$  with  $R = a^{1-\nu} \cdot l_c^\nu$ . Therein  $a$  is the monomer length (0.25 nm for PAA),  $l_c$  the contour length and  $\nu = 0.588$  the critical exponent for a polymer in 3d.<sup>28</sup> The length of the surface adherent section of the polymer is then given by  $l_S = A/b$ , where  $b$  is the effective width of the polymer. In a densely packed monolayer this number will be equal to the diameter of the polymer and any void in the packing will increase its value, whereas loops will decrease it again.

If we take the GPC-distribution and the calculated  $l_S$  as described above, we have to assume a value of  $b = 1.5 \text{ nm}$  in order to obtain the bridging length distribution drawn in Figure 3b (solid line). With these values we find an excellent agreement between the measured bridging length and our calculated distribution.

Whereas in the “dilute” monolayer the area per polymer was  $460 \text{ nm}^2$ , it dropped in the “dense” monolayer to  $200 \text{ nm}^2$  as determined by XPS. In average each polymer had therefore in the “dense” monolayer an area of  $\Delta A \approx 260 \text{ nm}^2$  less available to adsorb to than in the “dilute” sample. The length of the adsorbed polymer section in the “dense” monolayer is thus given by  $l_S = (A - \Delta A)/b$ . For the calculation of the resulting bridging





**Figure 3.** Distribution of bridging lengths determined by AFM desorption measurements in comparison with the molecular length distributions obtained by GPC: a) "dilute" PAA monolayer investigated with gold-coated AFM tip, b) "dilute" PAA monolayer with  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -tip, c) "dense" PAA monolayer with  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -tip. Moreover, the AFM-results of b) and c) were fitted with the described model:  $b=1.5$  nm and  $\nu = 0.588$  (b) and  $\nu = 0.553$  (c). All measurements were conducted in an aqueous solution containing 100 mM NaCl at pH 6.

length distribution (solid line in Figure 3c) the same value for the effective polymer width  $b = 1.5$  nm was taken as in the “dilute” sample. However, the critical exponent has to be smaller as the area covered by the polymers must not exceed the area per polymer defined by the grafting density. The best fit was obtained for  $\nu = 0.553$ . This might be interpreted as a hint that the conformation of the polymer in the “dense” monolayer is deviating from the ideal Gaussian distribution towards an elongated one. But again, the agreement between the calculated and the measured bridging length distribution is remarkable.

Polymers between particles are the essence of modern composite materials given them both strength and ductility in an unprecedented manner. We investigated both formation and dynamics as well as stability of such bridges by replacing the particle by the tip of an AFM cantilever. This allowed us to manipulate and at the same time quantify the interaction with the polymer at the level of individual molecules. We discovered that the competition of two unequal surfaces for the interaction with the polymer gives rise to a new set of phenomena including dynamic unbinding and density dependent bridging lengths. Any attempt to further optimize future composite materials will have to take these competitive aspects into account.

## Experimental Section

Monolayers of covalently end-grafted poly(acrylic acid) (PAA)  $(-\text{CH}_2\text{CHCOOH}-)_n$  chains were synthesized with the grafting-from technique under controlled/living radical polymerization conditions. Afterwards, the samples were characterized with gel permeation chromatography (GPC) and x-ray photoelectron spectroscopy (XPS) in order to determine the molecular weight distribution of the polymers and the grafting density on the surface. For further details concerning synthesis and characterization see <sup>26,29</sup>. The investigated samples are for differentiation named “dense” and “dilute”, their grafting densities were estimated as  $\sigma_{\text{dense}} \approx 1/200 \text{ nm}^{-2} \approx 2.3 \cdot \sigma_{\text{dilute}}$ .

All force spectroscopy experiments were conducted on a home-build instrument using silicon nitride cantilevers (Microlever) purchased from Veeco Instruments. For some experiments the cantilevers were in addition thermally coated with a few nm CrNi followed by a 40 nm thick gold layer.

**Acknowledgment.** We thank Dr. J. Parvole for the chemical characterization. Helpful discussions with Dr. M. Seitz, S. Kufer and F. Kühner are gratefully acknowledged. This work was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft and the Fonds der chemischen Industrie.

## References

- (1) R. R. Netz, D. Andelman, *Phys. Rep.* **2003**, 380, 1.
- (2) A. V. Dobrynin, M. Rubinstein, *Prog. Polym. Sci.* **2005**, 30, 1049.
- (3) D. Napper, *Polymeric Stabilization of Colloidal Dispersion*, Academic Press, New York, 1983.
- (4) J. H. Fendler, *Chem. Mater.* **1996**, 8, 1616.
- (5) J. F. Joanny, L. Leibler, P.-G. d. Gennes, *J. Polym. Sci. B* **1979**, 17, 1073.
- (6) G. Fritz, V. Schädler, N. Willenbacher, N. J. Wagner, *Langmuir* **2002**, 18, 6381.
- (7) H. W. Walker, S. B. Grant, *J. Colloid Interface Sci.* **1996**, 179, 552.
- (8) F. Lafuma, K. Wong, B. Cabane, *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, 143, 9.
- (9) E. Dickinson, L. Eriksson, *Adv. Colloid Interface Sci.* **1991**, 34, 1.
- (10) J. Swenson, M. V. Smalley, H. L. M. Hatharasinghe, *Phys. Rev. Lett.* **1998**, 81, 5840.
- (11) S. T. Milner, *Science* **1991**, 251, 905.
- (12) B. Zhao, W. J. Brittain, *Prog. Polym. Sci.* **2000**, 25, 677.
- (13) M. Ballauff, O. Borisov, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2006**, 11, 316.
- (14) X. Guo, M. Ballauff, *Langmuir* **2000**, 16, 8719.
- (15) S. Minko, *Polym. Rev.* **2006**, 46, 397.
- (16) T. Hugel, M. Seitz, *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, 22, 989.
- (17) A. Janshoff, M. Neitzert, Y. Oberdorfer, H. Fuchs, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, 39, 3213.
- (18) L. Sonnenberg, J. Parvole, F. Kuhner, L. Billon, H. E. Gaub, *Langmuir* **2007**, 23, 6660.
- (19) X. Chatellier, T. J. Senden, J. F. Joanny, J. M. di Meglio, *Europhys. Lett.* **1998**, 41, 303.
- (20) T. Hugel, M. Grosholz, H. Clausen-Schaumann, A. Pfau, H. E. Gaub, M. Seitz, *Macromolecules* **2001**, 34, 1039.
- (21) S. X. Cui, C. J. Liu, Z. Q. Wang, X. Zhang, *Macromolecules* **2004**, 37, 946.
- (22) C. Friedsam, H. E. Gaub, R. R. Netz, *Europhys. Lett.* **2005**, 72, 844.
- (23) F. Hanke, L. Livadaru, H. J. Kreuzer, *Europhys. Lett.* **2005**, 69, 242.
- (24) C. Friedsam, A. D. Becares, U. Jonas, M. Seitz, H. E. Gaub, *New J. Phys.* **2004**, 6.
- (25) M. Seitz, C. Friedsam, W. Jostl, T. Hugel, H. E. Gaub, *ChemPhysChem* **2003**, 4, 986.
- (26) J. Parvole, J. P. Montfort, G. Reiter, O. Borisov, L. Billon, *Polymer* **2006**, 47, 972.
- (27) F. Kuhner, M. Erdmann, H. E. Gaub, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, 97.
- (28) P.-G. d. Gennes, *Scaling Concepts in Polymer Physics*, Cornell University Press, USA, 1979.

- (29) L. Sonnenberg, J. Parvole, O. Borisov, L. Billon, H. E. Gaub, M. Seitz, *Macromolecules* **2006**, 39, 281.

## B Choose Sides: Differential Polymer Adhesion

Lars Sonnenberg, Julien Parvole, Ferdinand Kühner, Laurent Billon  
and Hermann E. Gaub

*Langmuir* **23** (2007), 6660-6666

### Abstract

AFM-based single molecule desorption measurements were performed on surface end-grafted poly(acrylic acid) monolayers as a function of the pH of the aqueous buffer to study the adhesion properties of polymers that bridge two surfaces. These properties were found to depend on the adhesion forces of both surfaces in a differential manner, which is explained with a simple model in analogy to the Bell-Evans formalism used in dynamic force spectroscopy. The measured interaction forces between the poly(acrylic acid) chains and silicon nitride AFM tips depend on the grafting density of the polymer monolayers as well as on the contour length of the polymer chains. This study demonstrates that the stability of polymer bridges is determined by the adhesion strengths on both surfaces, which can be tuned by using pH-dependent polyelectrolyte monolayers.

### Introduction

The adhesion of polymers to solid surfaces is of central importance for many technological applications. Thereby, polyelectrolyte molecules are of special interest since their water solubility promises economical and ecological benefits. In adhesives not only does the interaction with one surface count, but the polymers have to bridge two surfaces, which may be of a different nature. Differential adhesion aspects may dominate here! The two surfaces compete for the polymer to adhere, which eventually may result in a situation where adhesion is strong but bridging is lost. From the scientific point of view, the adsorption of charged molecules to charged surfaces is far from being completely understood as long-range Coulomb interactions play an important role and among other things complex charge regulation mechanisms occur.<sup>1,2</sup>

The atomic force microscope (AFM) has been shown to be a powerful tool to study the adhesion of single polymer molecules on solid supports by force spectroscopy measurements.<sup>3-7</sup> Therein single polyelectrolyte (PEL) molecules were continuously desorbed from a solid surface, and the corresponding desorption force was analyzed. Interestingly, the molecules show a high lateral mobility on the surface and simultaneously a

high adsorption energy on the order of  $10\text{-}20\ k_B T$ ,<sup>8</sup> a combination of adhesion properties with particular relevance for polymer coatings.

The studies investigating the polyelectrolyte desorption from solid supports showed that the desorption force can be measured reproducibly and with high precision. However, as the measured desorption force is only depending on the interaction of the polymer with the surface from which it is desorbed, differential aspects of the adhesion cannot be monitored. Instead, the appropriate experimental parameter to monitor the competition of the two surfaces is the length of the bridging segment as it is directly correlated with the lengths of the surface adsorbed segments.

Here we show that the adsorption properties of polymer chains bridging two surfaces are dependent on the adhesion forces of both surfaces. In detail, the adhesion strength between end-grafted poly(acrylic acid) (PAA) chains and silicon nitride ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ) AFM tips was modulated via a pH variation of the aqueous solution. As a result, the measured bridging length is increased or decreased, respectively. In order to explain the experimentally observed correlation of bridging length and desorption force, we present a model in analogy to the Bell-Evans formalism used in dynamic force spectroscopy.

The measured pH-dependence of the desorption force resembles the pH-dependent degree of dissociation of the PAA chains. We show that the density of polymer chains on the surface has an effect on the obtained desorption forces and thus on the dissociation equilibrium. In addition, the desorption forces were found to depend on the contour length of the polymer chains.

## Materials and Methods

**Surface End-Grafted Poly(acrylic acid) Monolayers.** The synthesis and chemical characterization of surface end-grafted poly(acrylic acid) (PAA) monolayers as used in this study is described in detail in refs 9 and 10. In brief, the “grafting-from technique” was used to prepare the PAA  $(-\text{CH}_2\text{CHCOOH})_n$  monolayers. The polymerization initiator was covalently bound via monochlorosilane headgroups to the inorganic substrate (silicon wafer) and the PAA chains were synthesized under controlled/living radical polymerization conditions. The grafting density was afterward adjusted by partial cleavage of the PAA chains from the surface. An ester group that connects the initiator and the silane anchor group acts herein as a break-seal group.

Gel permeation chromatography (GPC) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) were applied to the samples to determine the molecular weight of the PAA chains and to estimate their grafting density on the surface. This characterization opens up the possibility to directly compare GPC and AFM results obtained on the same samples.

In the following, it is referred to two PAA monolayer samples, which are for differentiation named “dense” (D) and “dilute” (d). The PAA chains from the “dense” monolayer have an average contour length of  $\langle l_c \rangle_D \approx 590\text{ nm}$  and a polydispersity of  $\text{PD}_D = 1.3$ . The “dilute”

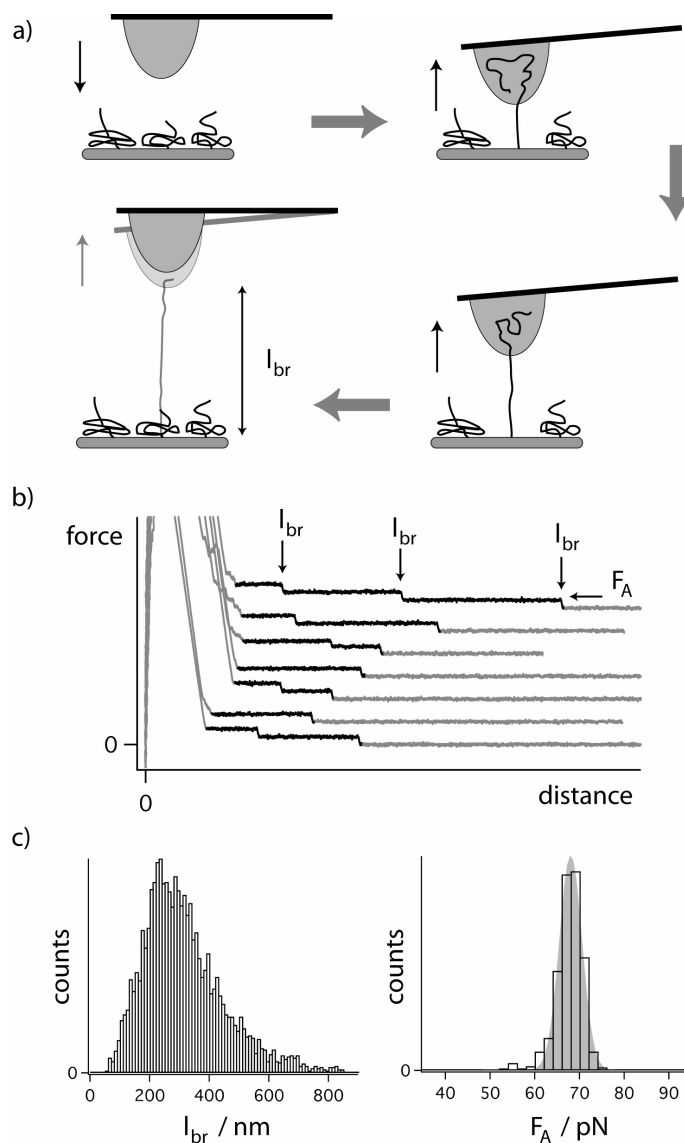
sample consists of PAA chains with an average contour length  $\langle l_c \rangle_d \approx 450$  nm and  $PD_d = 1.24$ . The grafting densities were estimated as follows:  $\sigma_D \approx 0.005$  molecule/nm<sup>2</sup>  $\approx 2.3\sigma_d$ .

**AFM Desorption Experiments.** In AFM-based desorption measurements using end-grafted polymer monolayers, single polymer chains are adsorbed on the tip of an AFM cantilever and successively desorbed from the tip by separating the AFM tip and sample surface (see Figure 1). With these experiments, we are able to probe a multitude of polymers grafted from a flat surface with the very same tip as follows: When approaching a bare AFM tip the chains will adsorb on the AFM tip as they gain adsorption enthalpy. Upon retraction of the AFM tip, the polymers successively desorb in an equilibrium process, which is due to a much faster dynamics of the surface-polymer contacts in comparison to the retraction velocity of the AFM tip (ca. 1  $\mu$ m/s). The polymers are not pinned to the AFM tip but highly mobile; that is, the adsorbed polymer segment is able to slide on the tip surface.<sup>8</sup> This means that the heterogeneities of the tip surface are not reflected in the measured force as the polymer rearranges during the desorption in order to maximize its adsorption enthalpy. The corresponding force-distance curves thus show plateaus of constant force representing the desorption process. As the complete desorption of a polymer chain is indicated by a drop in force, the number of desorbed molecules equals the number of observed plateaus, and the absolute distance at which a force drop occurs states the bridging length  $l_{br}$ . At high adsorption strengths, the polymer chain stays adsorbed until the end segment detaches, and the bridging length therefore represents the contour length of the polymer. Lateral displacements of the grafting point on the sample surface and the tip apex shorten the bridging length in comparison to the contour length of the polymer chain. However, in the case of contour lengths on the order of several hundred nanometers as used here (i.e., at length scales much larger than the end-to-end distance of the polymer chains), this effect becomes negligible.

The height of the force plateau represents the magnitude of the desorption force between the PEL chain and the surface, the mean desorption force is obtained by a statistical analysis. The desorption force histograms typically show values for the full width at half-maximum (fwhm) of ca. 6 pN, which enables a determination of the desorption forces with 1-2 pN precision. The analysis of the desorption forces is a bit more complicated here as the desorption forces are slightly dependent on the bridging length. From one measurement series, all plateaus are analyzed in terms of bridging length, but only the last plateau is considered for the desorption force as here no intermolecular interaction can adulterate the polymer-surface interaction. The desorption force is then taken from the bridging length that corresponds to the maximum position of the bridging length distribution.

All desorption experiments were conducted with a custom-made instrument using silicon nitride (Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>) cantilevers (Microlever) purchased from Veeco Instruments. Nominal spring constants were calibrated using the thermal oscillation method.<sup>11</sup> Note that the

calculated spring constants may have deviations of up to 10%; therefore, measurements series were performed with the same cantilever for being able to monitor minute force differences.



**Figure 1.** (a) Schematics of a single molecule desorption experiment with surface end-grafted polymers by means of an AFM. (b) Typical records of the de-adhesion force measured upon retracting the tip from the surface. A plateau represents a polymer sliding off the tip. The number of plateaus equals the number of desorbed polymer chains. (c) Statistical analysis of the bridging length  $l_{br}$  and the desorption force  $F_A$ . The distribution of the bridging length is a function of the molecular length distribution of surface-grafted chains. The histogram of the desorption force can be fit by a Gaussian distribution with typical values for fwhm of ca. 6 pN. Histograms were taken from the “dilute” monolayer at pH 6.



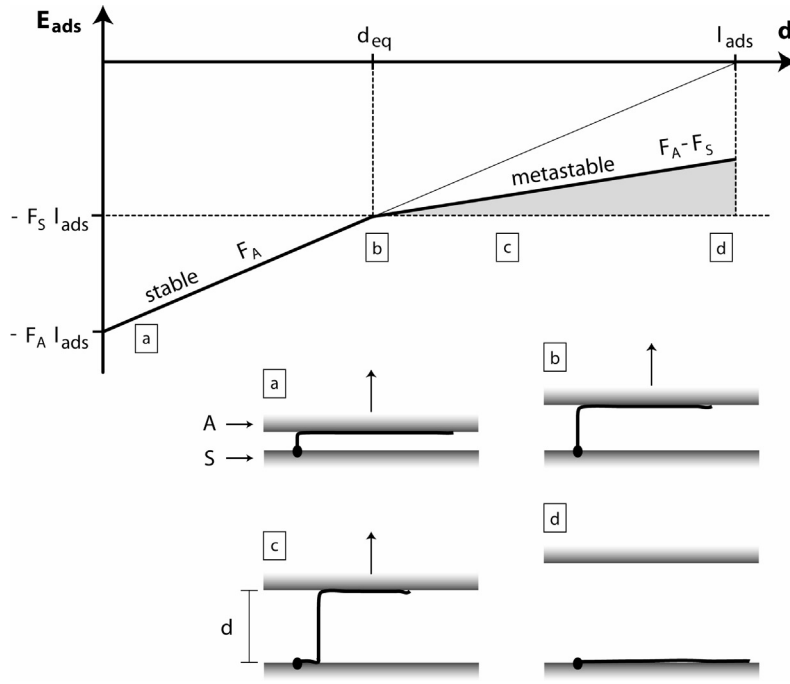
Before the measurements, the  $\text{Si}_3\text{N}_4$  tips were cleaned with UV light, and control measurements on the interaction of the AFM tips with bare silica substrates were performed in order to exclude contaminations of the tip surface. In the desorption experiments, only these bare  $\text{Si}_3\text{N}_4$  tips were used. The experiments were conducted in aqueous solution containing 100 mM NaCl, and typically at least 1000 force-distance curves were measured on different spots on the surface to ensure that a representative ensemble of molecules is probed.

## Theoretical Basis

**Differential Polymer Adhesion Model.** In a desorption experiment as described above, the PEL chain is not only able to interact with the AFM tip but also with the sample surface on which the polymers are grafted (see Figure 2). The resulting competition of the two surfaces for the polymer to adhere affects the measured bridging length. In contrast to that, the measured desorption force is only depending on the interaction of the polymer molecule with the desorbing surface.

In the case of an AFM tip in the vicinity of the sample surface, the molecule will only adsorb onto the tip surface when it is energetically favorable. In a simple perception, the adhesion force of the polymer chain with the AFM tip  $F_A$  (which equals the adhesion enthalpy per unit length) has to exceed the adhesion force with the substrate  $F_S$ . The length of the polymer chain, which then adsorbs on the AFM tip is denoted by  $l_{ads}$ . When retracting the AFM tip, monomers of the polymer chain are successively desorbed from the AFM tip surface and the overall adsorption energy is reduced proportional to  $F_A$ . However, at a certain tip-substrate separation  $d$ , which here is called the equilibrium distance  $d_{eq}$ , the equilibrium adsorption enthalpies of the remaining adsorbed segment on the AFM tip and of the polymer chain completely adsorbed on the substrate are equal:  $d_{eq} = (1 - F_S/F_A)l_{ads}$ . When further enlarging the tip-substrate separation,  $d$ , the continuous desorption from the tip is energetically not favorable to the complete detachment of the remaining adsorbed segment from the AFM tip any more. Nevertheless, this metastable desorption of monomers from the tip is still likely as the two states are separated by an energy barrier, which has to be overcome by thermal fluctuations. The probability that the system manages to overcome the energy barrier is thereby increased by further desorbing monomers from the AFM tip as the height of the energy barrier is proportional to the number of adsorbed monomers. In this distance regime,  $d > d_{eq}$ , a nonequilibrium process next to the continuous desorption process under equilibrium conditions has to be considered: the instantaneous and complete detachment of the adsorbed part of the polymer chain from the AFM tip.

In the framework of a two-state model comprising an adsorbed and a detached conformation, the instantaneous complete detachment of the adsorbed polymer segment can be treated in close analogy to the dissociation process known for example from breaking



**Figure 2.** Model for differential polymer adhesion showing the adsorption energy vs the distance  $d$  of the two surfaces. The polymer chain is grafted at surface  $S$  and allowed to interact with both surfaces,  $A$  and  $S$ . Only if the adsorption force of  $A$  ( $F_A$ ) is higher than the adsorption force of  $S$  ( $F_S$ ), the polymer chain will adsorb on  $A$  with the length  $l_{ads}$ . When successively desorbing the polymer chain from  $A$ , the adsorption energy is reduced proportional to  $F_A$  until the equilibrium distance  $d_{eq}$  is reached at which the adsorption energy of the remaining adsorbed segment equals the adsorption energy if the polymer would be completely adsorbed on  $S$ . Thus, from this distance on it is energetically not favorable for the adsorbed polymer segment to stay adsorbed at  $A$ . The system is now in a metastable state. Thermal fluctuations may detach the remaining adsorbed segment and as a consequence, the measured (bridging) length becomes dependent on the difference of the adsorption forces between both surfaces.

ligand-receptor bonds. Thus, a model in analogy to the Bell-Evans formalism<sup>12,13</sup> widely used in dynamic force spectroscopy is proposed here (see Figure 2). It is therein assumed that the dissociation process is determined by the difference in adsorption forces of the two surfaces  $\Delta F = F_A - F_S$ . The distance-dependent thermal off-rate  $k_{off}$  is then given as

$$k_{off}(d) = k_0 \cdot \exp\left(\frac{(d - l_{ads}) \cdot \Delta F}{k_B T}\right) \quad (1)$$

with the attempt frequency  $k_0$ , the length of the adsorbed polymer  $l_{ads}$ , and the thermal energy  $k_B T$ . The probability function  $P(d)$  for the detached state is then given by

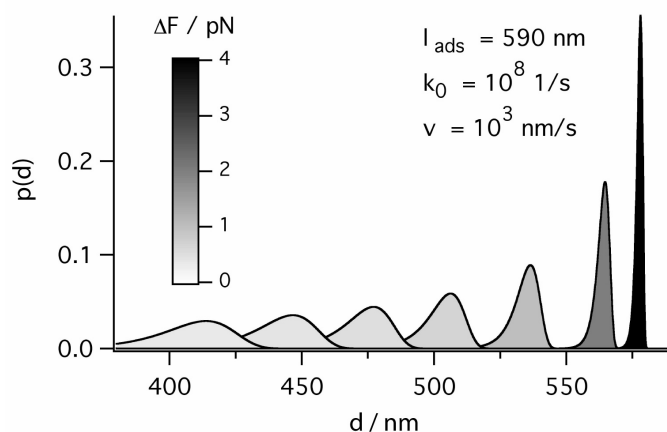
$$P(d) = 1 - \exp\left(-\frac{1}{v} \int_{d_0}^d k_{off}(l) dl\right) \quad (2)$$

wherein  $v = dd/dt$  describes the retraction velocity of the AFM tip during the experiment, which is experimentally adjusted. The probability density function  $p(d)$ , which describes the probability to find a detachment event at a distance  $d$ , becomes

$$p(d) = \frac{dP(d)}{dd} = \frac{k_{off}(d)}{v} \cdot \exp\left(-\frac{1}{v} \int_{d_0}^d k_{off}(l) dl\right) \quad (3)$$

The probability density function of the surface-grafted polymer monolayer can in principle be directly adjusted to the measured distribution of bridging lengths. Therefore, the following parameters have to be determined: the adsorbed length  $l_{ads}$ , the attempt frequency  $k_0$ , and the adsorption force of the polymer with the substrate  $F_S$ .  $F_A$  representing the interaction of the molecule with the AFM tip is directly measured in the experiment as it is given by the height of the force plateau in the force-distance curves.

A calculation of the probability density function for distinct values of  $\Delta F$  is given in Figure 3, wherein  $l_{ads} = 590$  nm,  $k_0 = 10^8$  s<sup>-1</sup>, and  $v = 1$   $\mu$ m/s are assumed. These values correspond to the average length of a polymer chain in the “dense” monolayer, the retraction velocity used in the experiments, and the time scale of fluctuations of a Kuhn segment in a polymer chain (1-10 ns).<sup>14,15</sup>



**Figure 3.** Calculated probability density functions  $p(d)$  for distinct values of the difference in adsorption forces  $\Delta F = F_A - F_S$  according to the proposed model for differential polymer adhesion. The adsorbed length is set to 590 nm, the attempt frequency to  $10^8$  s<sup>-1</sup> and the retraction velocity to 1  $\mu$ m/s.

It can be seen that a notable decrease of the bridging length only occurs if the adsorption forces of the two surfaces are quite similar. Already at a force difference  $\Delta F = 4$  pN the bridging length resembles the adsorbed length  $l_{ads}$ . Moreover, a decrease in bridging length is associated with a broadening of the probability density function. An average bridging length  $\langle l_{br} \rangle$  can be defined as the maximum position of the probability density

function  $p(d)$  or the measured distribution of bridging lengths, respectively

$$\langle l_{br} \rangle = \frac{k_B T}{\Delta F} \cdot \ln \left( \frac{v \cdot \Delta F}{k_0 \cdot k_B T} \right) + l_{ads} = \Delta l + l_{ads} \quad (4)$$

In conclusion, the bridging length is expected to shorten in comparison to  $l_{ads}$  when the adhesion forces of both surfaces become similar. The shortening of the bridging length is in the following also denoted as length shift  $\Delta l < 0$ .

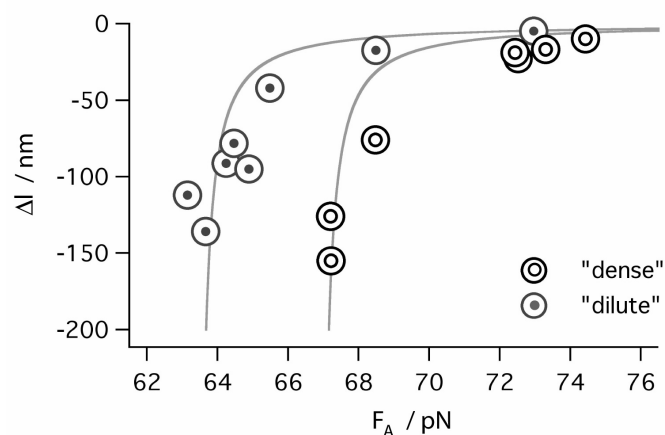
## Results and Discussions

**Correlation between Desorption Force and Bridging Length.** The aim of this section of the paper is to compare the experimental results with the proposed differential polymer adhesion model (i.e., to point out that differential aspects due to the simultaneous interaction of the polymer with two surfaces have to be considered). For the modeling according to eq 4, a shift  $\Delta l$  of the measured bridging length has to be observed. This can be achieved by varying the pH of the aqueous solution because the electrostatic properties of PAA as a weak polyelectrolyte can be tuned by the solution pH.<sup>9</sup>

The most important prerequisite of the proposed model is a correlation between the length shift  $\Delta l$  and the difference in desorption forces of both surfaces  $\Delta F$ . From the experimental point of view  $\Delta F$  is unknown and only the desorption force  $F_A$  can be directly measured in the experiments. Thus, in Figure 4 the length shift  $\Delta l = \langle l_{br} \rangle - l_{ads}$  is displayed versus the corresponding desorption force  $F_A$  as observed at different pH values of an aqueous solution. Each data point of Figure 4 is based on a measurement series of about 1000 force-distance curves (see also Figure 1). Moreover data gained from two PAA monolayers of different grafting densities are shown. For both samples, the observed bridging lengths are an increasing function of the desorption force. Two main regimes can be distinguished as follows: In the case of pronounced length shifts ( $\Delta l < -50$  nm), small variations of the desorption force have large impact on the length shift, whereas for small length shifts ( $\Delta l > -50$  nm),  $\Delta l$  is getting less sensitive to an increase of the desorption force.

The dependence of the length shift on the desorption force is in very good agreement with the predictions of the model. The solid lines in Figure 4 are calculated curves based on formula 4 assuming a pH-independent  $F_S$  of 63.4 pN for the “dilute” and 66.8 pN for the “dense” sample. An attempt frequency of  $k_0 = 10^8 \text{ s}^{-1}$  was used.

These results already show that polymer bridging is a differential process comprising both surfaces as the bridging length is a function of the interaction force. The validity of the proposed model can be further tested because a length shift should go hand in hand with a broadening of the measured bridging length distribution (see Figure 3). This broadening should be most pronounced for large length shifts. Thus, in Figure 5, the bridging length distributions for the maximal observed length shift of  $\Delta l \approx -140$  nm as obtained with the “dilute” and the “dense” PAA monolayer are displayed. In addition the distributions



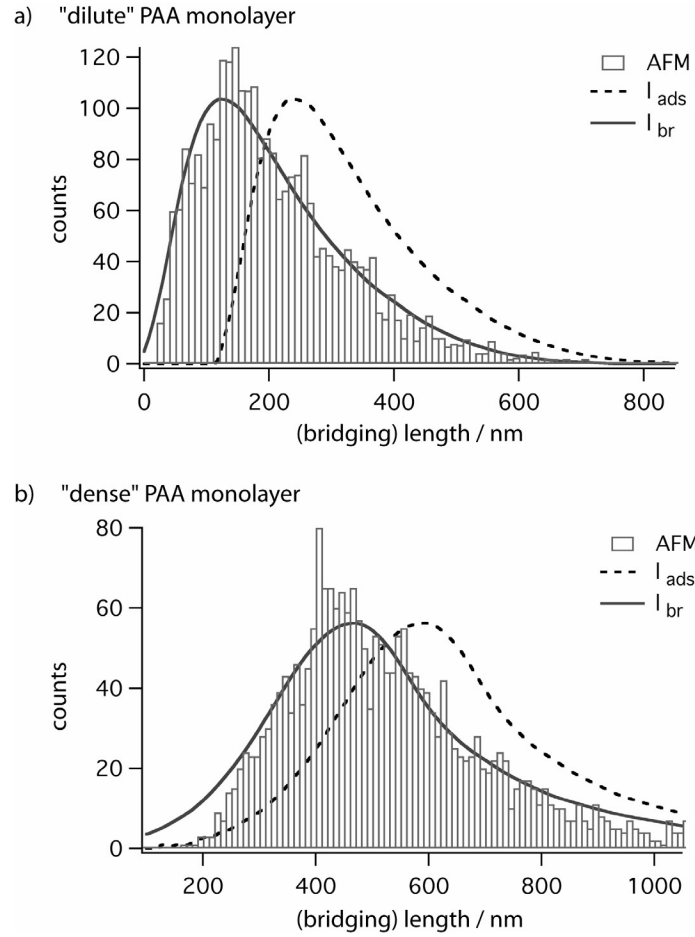
**Figure 4.** Length shift  $\Delta l$  as obtained with desorption measurements at varying pH in dependence of the measured desorption force  $F_A$ . The correlation of the two parameters is qualitatively in very good agreement with formula 4, when  $F_S$  is considered constant.

of adsorbed lengths are displayed (dashed lines in Figure 5), which correspond according to the definition to  $\Delta l \approx 0$  nm. The distribution of adsorbed lengths and its correlation with the molecular length distribution of the PAA monolayer is discussed in detail in a separate study (manuscript in preparation).

On the basis of eq 3, length distributions can be calculated and directly compared to the measured distributions of bridging lengths. Thereby, two model parameters have to be taken into account: the attempt frequency  $k_0$  and the force difference between the two surfaces  $\Delta F$ . In the following, an attempt frequency of  $k_0 = 10^8 \text{ s}^{-1}$  was assumed and  $\Delta F$  remained the only fit parameter. The best agreement of the resulting calculations (solid lines in Figure 5) and the bridging length histogram was found for  $\Delta F \approx 0.5$  pN in both cases. This observation is qualitatively in agreement with the proposed model as a similar value for  $\Delta l$  has to be associated with a similar value for  $\Delta F$ . This very good agreement between model and experiment shows that the model described above is a good approximation for differential aspects of polymer adhesion.

**pH-Dependent Desorption Forces.** The main advantage of AFM-based desorption measurements is the quantification of the interaction between polymer and surface with very high precision and the possibility to resolve various contributions to the desorption force (e.g., from electrostatic interactions<sup>4,5</sup>). In this section of the paper, we use this strength to conclude the pH-dependent charge density of the PAA chains from the desorption forces as a function of the solution pH.

In general, the desorption force of a charged polymer on a charged surface consists of a Coulomb and a non-Coulomb contribution. The electrostatic desorption force  $F_{el}$  is in Debye-Hückel approximation given as  $F_{el} \propto \kappa^{-1} \sigma \tau$  with the Debye screening length  $\kappa^{-1}$ ,

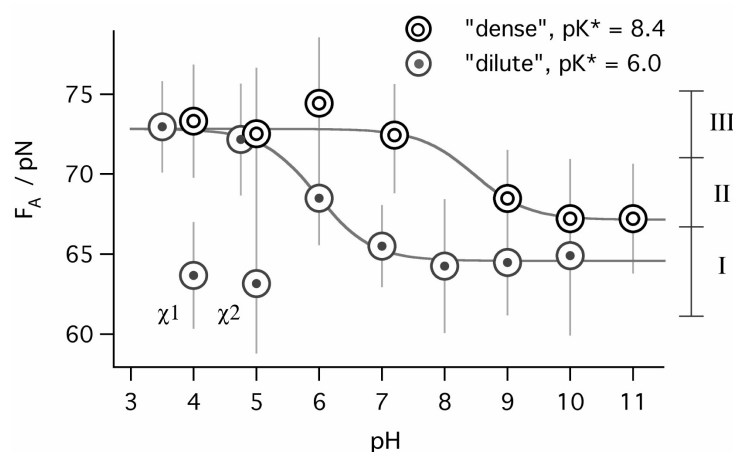


**Figure 5.** Distributions of bridging lengths for (a) the “dilute” and (b) the “dense” PAA monolayer. Both measurement series show a length shift of  $\Delta l \approx -140$  nm. The fit of the bridging length were obtained by assuming the distribution of adsorbed lengths (dashed line) and applying the differential adhesion model. An attempt frequency of  $10^8$  s<sup>-1</sup> and a force difference of ca. 0.5 pN is used in both cases.

the surface potential  $\sigma$ , and the linear charge density of the polyelectrolyte chain  $\tau$ . When the surface and polymer charges originate from dissociable ionic groups as in the case of PAA and silicon nitride, both  $\sigma$  and  $\tau$  are pH-dependent. In addition, charge regulation has to be taken into account; that is, the degree of dissociation depends on electrostatic screening due to intramolecular Coulomb repulsion between adjacent charges.<sup>16–18</sup>

In Figure 6, the desorption forces measured with Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> tips on the “dense” and “dilute” PAA monolayer are plotted versus the pH of the aqueous solution. Desorption forces decrease with increasing pH, the decrease is more pronounced in the case of the “dilute” sample. Both data sets can be fit with a titration function  $F_A = F_{A0} + \Delta F_A / (1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}^*})$  showing deflection points  $\text{pK}^* = 8.4$  for the “dense” monolayer and  $\text{pK}^* = 6.0$  for the “dilute” monolayer. A larger  $\text{pK}^*$  value in the case of the “dense” PAA monolayer is in

qualitative agreement with the proposed model of differential adhesion as the bridging length also decreases at higher pH for the “dense” monolayer (data not shown). It should further be noted that with the “dilute” sample at  $\text{pH} < 6$  additional desorption forces were obtained that are significantly smaller than expected from the titration behavior (points  $\chi_1$  and  $\chi_2$  in Figure 6).



**Figure 6.** Desorption forces as obtained with  $\text{Si}_3\text{N}_4$  tips and the “dilute” and “dense” PAA monolayer in dependence on the solution pH. Errors bars represent the fwhm of the force histograms. Both data sets were fit with a titration function (solid lines). The two measurement series were taken with different AFM tips. To take small force differences due to the spring constant calibration into account, the desorption forces were adjusted such that the fit functions overlay at pH 3.

The decrease of the desorption force with increasing pH value can be explained with increasing electrostatic repulsion of the negatively charged PAA chain and the negatively charged tip surface (the  $\text{pK}$  of the surface OH groups is around 2-3). The electrostatic desorption force is negative in the case of Coulomb repulsion and therefore lowers the overall desorption force when Coulomb interactions are increased. The observed behavior in Figure 6 is most probably strongly correlated with the pH-dependent dissociation of the carboxylic groups in the PAA chains as the typical titration function associated with dissociation reactions is able to reproduce the data. However, as the surface charge of the AFM-tip may also be increased with increasing pH, the deflection points  $\text{pK}^*$  of the titration fits do not necessarily correspond to the apparent  $\text{pK}$  of the PAA chains.

The difference of the  $\text{pK}^*$  values in dependence on the grafting density of chains on the sample surface may be explained by Coulomb interactions between adjacent charges. It is well-known that the electrostatic repulsion between charges along the polyelectrolyte chain counters the dissociation reaction of the ionic groups. The apparent  $\text{pK}$  value of a PAA chain is therefore larger than the  $\text{pK}$  of a single carboxylic group. One may speculate that the electrostatic repulsion between neighboring PAA chains also lowers the molecu-

les' degree of dissociation. This intermolecular electrostatic repulsion should be absent for isolated polymer chains and should increase with increasing grafting density. For the "dilute" and "dense" PAA monolayer separated polymers and overlapping molecules are expected when a 3d conformation of the polymer chains on the surface is assumed. In this model, intermolecular interactions would lower the degree of dissociation of the polymer chains in the "dense" sample, whereas intermolecular electrostatic repulsion would be mainly negligible in the "dilute" sample. This would result in a grafting density dependent  $pK^*$  value. However, it should be noted that this is most probably not true any more for higher grafting densities in the regime of dense polyelectrolyte brushes.<sup>19,20</sup>

At this point, it is important to emphasize that the considerations above did not include the impact of the AFM tip. The PAA chains adsorb on the tip surface as they gain free enthalpy. Thereby, the degree of dissociation of the adsorbed polymer might be affected: As soon as the polymer adsorbs on the AFM tip, the molecule is isolated and its dissociation is not dependent any more on the conformation in the polymer monolayer. As a consequence, the charge density of the polymer will probably be increased. However, once the PAA chain is adsorbed on the negatively charged tip surface, an increase in polymer charge density would lead to an increased Coulomb repulsion and thus to a reduction of the overall adsorption enthalpy. From the results displayed in Figure 6, we therefore conclude that the polymer tries to maximize its adsorption enthalpy such that a reduced dissociation of the PAA due to the conformation on the sample surface is conserved upon adsorption on the silicon nitride AFM tip. That is, the degree of dissociation of the adsorbed PAA polymer resembles the degree of dissociation of the polymer in the monolayer before adsorption on the tip. As a consequence, conclusions on the dissociation equilibrium of polyelectrolytes in a monolayer can be drawn from the desorption forces as obtained with AFM-based single molecule force spectroscopy.

In the following, a comment on the very different desorption forces that were found for the "dilute" PAA monolayer at  $pH < 6$  (points  $\chi_1$  and  $\chi_2$ ) is given. Most importantly in the context of this work, the observed bridging lengths that correspond to the very different desorption forces are in perfect agreement with the proposed model for differential polymer adhesion. A high/low desorption force results in a large/small bridging length. A very similar observation was made on the "dense" monolayer, namely a bimodal bridging length distribution was observed at  $pH 4$  and  $5$ .<sup>9</sup> It was discussed that water becomes a bad solvent for PAA in this  $pH$  regime and that theoretical studies predict a coexistence of collapsed and noncollapsed chain conformations under this conditions.<sup>21,22</sup>

**Contour Length Dependent Desorption Forces Analyzed at the Level of Individual Polymers.** The conceptual strength of single molecule experiments is the option to sort data according to certain criteria and to achieve information that might be hidden in the ensemble averaging of bulk experiments. In this section of the paper we make extensive use of this option, since in addition to the ensemble properties discussed

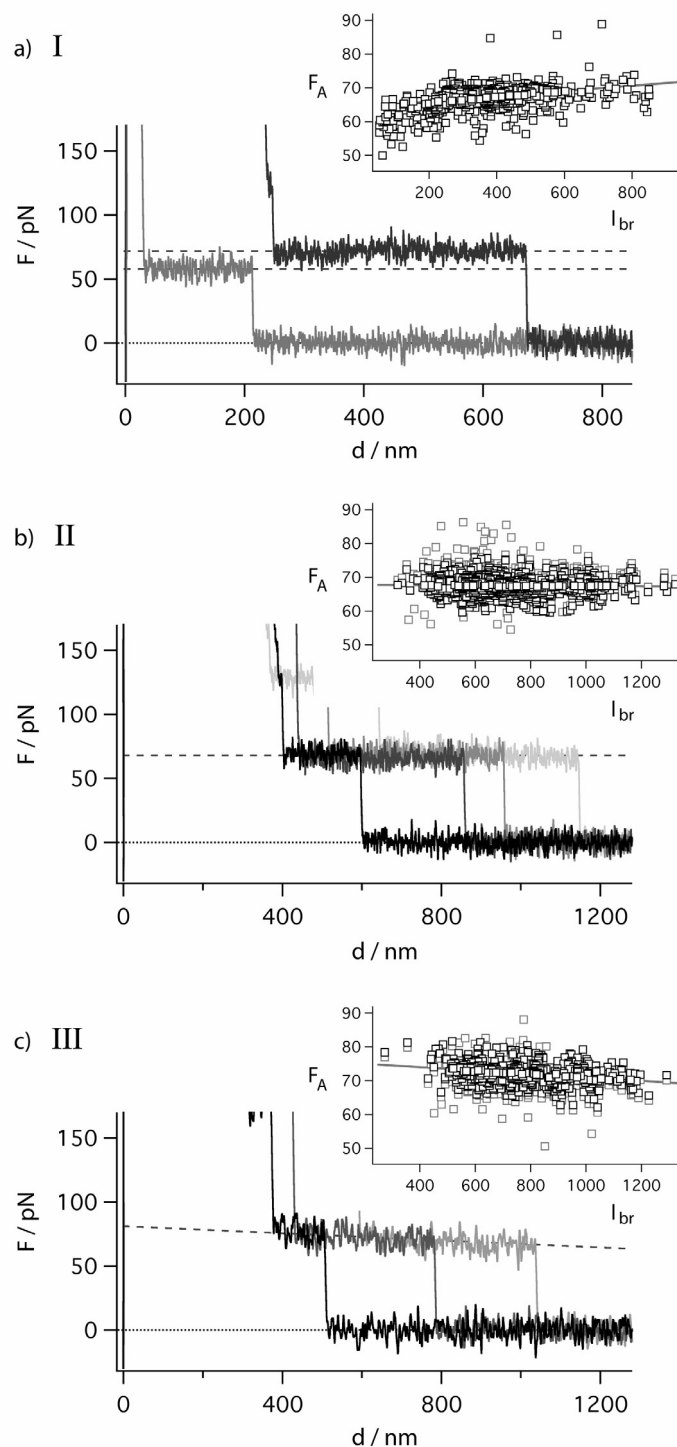


above, minute differences in the desorption forces were found on the level of individual PAA molecules.

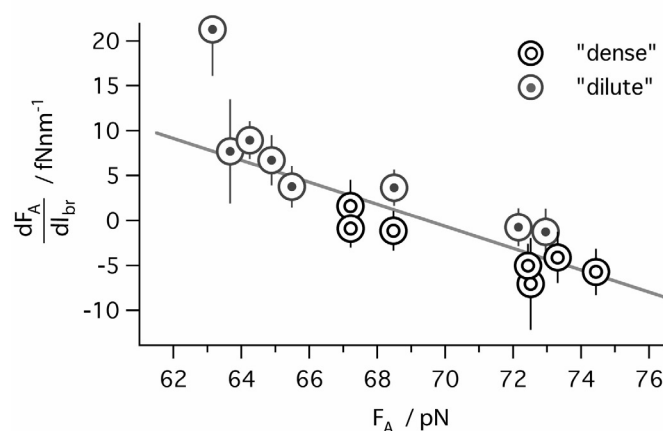
First of all it should be noted that the observed contour length dependent effects are minute effects, differences of the desorption force are just on the order of a few pN. Expressed in terms of adhesion enthalpy these differences correspond to less than  $0.5 k_B T$  per monomer. In Figure 7, force-distance curves are shown, which were sorted according to the desorption forces (see scale in Figure 6). The curves in Figure 7a were taken from “dilute” PAA monolayer data and represent the case of “low” desorption forces. Flat plateaus were observed for all bridging lengths, whereas the desorption force was found to increase with bridging length. This is most visible in the inset where the individual desorption plateau forces were extracted from the curves and plotted with the dependence of the bridging lengths. In Figure 7b, curves from the “intermediate” force regime and the “dense” PAA monolayer are shown. Therein the plateau force was found to be constant (see inset Figure 7b). At “high” desorption forces, which correspond from the discussion above to uncharged polymer chains, a second effect occurs. In the curves in Figure 7c observed with the “dense” PAA monolayer, it can be seen that the desorption force decreases during the desorption process. In this case, the plateau forces seem to overlay at zero distance.

The desorption forces in dependence on the bridging lengths as shown in the insets of Figure 7 were fit with a linear regression,  $F_A = F_0 + (dF_A/dl_{br})l_{br}$ . Figure 8 shows the values of the obtained slopes  $dF_A/dl_{br}$  plotted versus the mean desorption forces (see Figure 6). The slopes, which represent the magnitude of the contour length dependent effect on the desorption forces, are decreasing continuously with desorption force.

The observed length dependent desorption force may be explained by contour length dependent variation of the degree of dissociation. If the force decrease as displayed in Figure 6 is related to enhanced electrostatic interactions, the Coulomb repulsion is most pronounced at “low” desorption forces (Figure 7a). Contour-length dependent effects that are caused by a slightly varying degree of dissociation should best be visible in this force regime. The results from Figure 7a would then be interpreted with a slightly decreasing degree of dissociation of PAA chains with increasing contour length as was also observed with titration experiments.<sup>23</sup> If the argument of contour length dependent polymer charge densities holds true, this effect has to attenuate when the electrostatic interaction is decreased (i.e., at higher desorption forces). This is what we observe as continuous decrease of this effect as illustrated in Figure 8 until it is not detectable any more (see Figure 7b). However, at higher desorption forces, which are related to uncharged PAA chains, a second effect, namely decreasing force plateaus (see Figure 7c), occurs. The fact that the plateau forces are equal at zero distance indicate that the underlying mechanism does not depend on the length of the adsorbed segment but on the length of the bridging segment. How this should effect the plateau force is unclear. The resulting negative slopes in Figure 8 suggest the continuous transition as described above.



**Figure 7.** Force-distance curves from different regimes of desorption forces (see scale in Figure 6): (a) was extracted from data of the “dilute” PAA monolayer, (b and c) from “dense” PAA monolayer data. The desorption forces  $F_A$  in dependence of the bridging lengths  $l_{br}$  are shown in the insets.



**Figure 8.** Desorption forces  $F_A$  as a function of the bridging length  $l_{br}$  (see insets of Figure 7) were fit according to  $F_A = F_0 + (dF_A/dl_{br})l_{br}$ . The values of the obtained slopes  $dF_A/dl_{br}$  are plotted versus the mean desorption force  $F_A$ .

## Conclusions

We demonstrated that the adhesion properties of bridging polymers are dependent on the interaction with both surfaces in a differential manner. In the AFM-based single molecule desorption experiments surface end-grafted PAA chains were allowed to adsorb on an AFM-tip and the maximum bridging length was determined upon retracting the cantilever. The impact of the second surface was clearly shown by a manipulation of the polymer surface interaction via changing the pH of the aqueous solution, which led to large differences of the bridging length distributions. The experimental results were found to be in very good agreement with a model for differential polymer adhesion in analogy to the Bell-Evans formalism. The findings are of general importance for all applications where polymer bridging occurs but with special impact in the case of similar surface properties. Moreover we showed that the desorption force as a function of the solution pH and thus of the degree of dissociation of the PAA chains depends on the grafting density of the polymer monolayers. The dissociation was reduced at higher grafting density. Differences in the interaction force were also found on the level of individual polymers showing that the desorption force is also depending on the contour length of the polymer chains.

**Acknowledgment.** Helpful discussions with Prof. Thorsten Hugel (TU München) and Dr. Markus Seitz are gratefully acknowledged. This work was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 486) as well as DAAD and EGIDE (Procope).

## References

- (1) Netz, R. R.; Andelman, D. *Phys. Rep.* **2003**, 380, 1-95.
- (2) Dobrynin, A. V.; Rubinstein, M. *Prog. Polym. Sci.* **2005**, 30, 1049-1118.
- (3) Chatellier, X.; Senden, T. J.; Joanny, J. F.; di Meglio, J. M. *Europhys. Lett.* **1998**, 41, 303-308.
- (4) Hugel, T.; Grosholz, M.; Clausen-Schaumann, H.; Pfau, A.; Gaub, H.; Seitz, M. *Macromolecules* **2001**, 34, 1039-1047.
- (5) Seitz, M.; Friedsam, C.; Jöstl, W.; Hugel, T.; Gaub, H. E. *Chem. Phys. Chem.* **2003**, 4, 986-990.
- (6) Friedsam, C.; Becares, A. D.; Jonas, U.; Seitz, M.; Gaub, H. E. *New J. Phys.* **2004**, 6.
- (7) Cui, S. X.; Liu, C. J.; Wang, Z. Q.; Zhang, X. *Macromolecules* **2004**, 37, 946-953.
- (8) Kühner, F.; Erdmann, M.; Sonnenberg, L.; Serr, A.; Morfill, J.; Gaub, H. E. *Langmuir* **2006**, 22, 11180-11186.
- (9) Sonnenberg, L.; Parvole, J.; Borisov, O.; Billon, L.; Gaub, H. E.; Seitz, M. *Macromolecules* **2006**, 39, 281-288.
- (10) Parvole, J.; Montfort, J. P.; Reiter, G.; Borisov, O.; Billon, L. *Polymer* **2006**, 47, 972-981.
- (11) Butt, H. J.; Jaschke, M. *Nanotechnology* **1995**, 6, 1-7.
- (12) Evans, E.; Ritchie, K. *Biophys. J.* **1997**, 72, 1541-1555.
- (13) Bell, G. I. *Science* **1978**, 200, 618-627.
- (14) Kimmich, R.; Fatkullin, N. *Adv. Polym. Sci.* **2004**, 170, 1-113.
- (15) Tang, J.; Lin, S. H. *Phys. Rev. E* **2006**, 73.
- (16) Friedsam, C.; Gaub, H. E.; Netz, R. R. *Europhys. Lett.* **2005**, 72, 844-850.
- (17) Boroudjerdi, H.; Kim, Y. W.; Naji, A.; Netz, R. R.; Schlagberger, X.; Serr, A. *Phys. Rep.* **2005**, 416, 129-199.
- (18) Netz, R. R. *J. Phys.: Condens. Matter* **2003**, 15, S239-S244.
- (19) Ahrens, H.; Forster, S.; Hehn, C. A.; Kumar, N. A.; Naji, A.; Netz, R. R.; Seidel, C. *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108, 16870-16876.
- (20) Rühle, J.; Ballauff, M.; Biesalski, M.; Dziezok, P.; Gröhn, F.; Johannsmann, D.; Houbenov, N.; Hugenberg, N.; Konradi, R.; Minko, S.; Motornov, M.; Netz, R. R.; Schmidt, M.; Seidel, C.; Stamm, M.; Stephan, T.; Usov, D.; Zhang, H. N. *Adv. Polym. Sci.* **2004**, 165, 79-150.
- (21) Raphael, E.; Joanny, J. F. *Europhys. Lett.* **1990**, 13, 623-628.
- (22) Zhulina, E. B.; Borisov, O. V.; van Male, J.; Leermakers, F. A. M. *Langmuir* **2001**, 17, 1277-1293.
- (23) Hackley, V. A. *J. Am. Ceram. Soc.* **1997**, 80, 2315-2325.

## C AFM-Based Single Molecule Force Spectroscopy of End-Grafted Poly(acrylic acid) Monolayers

Lars Sonnenberg, Julien Parvole, Oleg Borisov, Laurent Billon, Hermann E. Gaub and Markus Seitz

*Macromolecules* **39** (2006), 281-288

### Abstract

AFM-based single molecule force spectroscopy has been applied to study the detachment of poly(acrylic acid) (PAA) chains preadsorbed onto a silicon nitride tip surface at varied pH. In particular, monolayers of end-grafted chains prepared by nitroxide-mediated polymerization initiated from silica substrates were brought into close contact with the silicon nitride tip of an AFM. The detachment of PAA chains from the tip surface is reflected by a set of constant-force plateaus in the AFM force spectra. From those, comprehensive information about the molecular length distribution of surface-grafted polymers, about their conformation, and about their interaction with the tip as a function of pH is deduced. At neutral pH, the plateau-length distribution well reproduces the molecular weight distribution of the grafted polymers as obtained by GPC. At high pH, increasing electrostatic repulsion between PAA and the tip surface reduces the strength of adsorption, which is manifested in a decrease of average plateau lengths and measured detachment forces. At low pH, complex force spectra and a bimodal distribution of apparent molecular lengths are obtained, reflecting the poor solubility of protonated PAA chains in water as well as polymer-substrate interactions.

### Introduction

Polymers anchored to solid interfaces are in the focus of materials science, as they offer a broad range of applications, from tribology to biomedicine, where specific properties of the interfaces are tuned by proper surface modification. In general, water-based systems offer the best opportunity to combine a multitude of independently tunable interactions, in particular, hydrophobic and electrostatic ones. Hereby, polyelectrolytes are of particular importance, as their electrostatic interactions can be affected, and thus tuned, by ionic strength as well as by pH (in the case of pH-sensitive polyelectrolytes and surfaces). For the creation of end-grafted polymer layers on solid substrates, one most prominent

method is the so-called “grafting-from” technique. Because of its proficiency to lead to macromolecules with well-defined architecture and macromolecular dimensions, controlled/living radical polymerization (CRP) and in particular nitroxide-mediated polymerization (NMP) has been extensively described for almost 10 years.<sup>1–8</sup> Hereby, postmodification and/or copolymerization enable to create grafted amphiphilic (co)polymer layers with controlled hydrophilic/hydrophobic balance, ionic groups, gradient of properties along the chemical sequence, etc. This opens a large perspective for the design of polymeric monolayers with predetermined and responsive features adjustable for different applications. For a better understanding of the structure-property relationships in these polymer layers, which is necessary for the tuning of the materials’ properties, there is need for characterization at the molecular level. Several techniques, such as SFA and AFM, have been employed to study the conformation of surface-attached polymers in ensemble measurements. The interpretation of these experiments was based on well-established theories for end-grafted polymers and polyelectrolytes.

Among the experimental methods for the studying of conformations and interactions of macromolecules, AFM-based force spectroscopy is one of the most powerful and sensitive ones. At the level of individual polymer chains, it has been successfully used to measure intra- and intermolecular forces with high precision.<sup>9–12</sup> The method enables to elucidate collective effects arising from confinements and interactions between substrate-grafted chains subjected to extensional deformation,<sup>13</sup> and it was proved useful in the investigation of polymer conformations and molecular bond strengths at the single molecule level.<sup>9,14–16</sup>

Finally, and most importantly for the context of this work, the interactions of individual macromolecules with solid-liquid interfaces have been successfully studied by AFM force spectroscopy.<sup>17</sup> The loop-size distribution of adsorbed polymer chains at the solid substrate<sup>18</sup> and the forces, which are necessary to pull them off the substrate,<sup>18–20</sup> were measured. For polyelectrolytes on oppositely charged substrates, it was found that the magnitude of these desorption forces depends linearly on the Debye screening length and on the linear charge density of the polyelectrolyte chains.<sup>17,21</sup> Further details of non-Coulomb contributions to the desorption force as well as the influence of the solvent were revealed.<sup>22</sup>

In a paper by Li et al.,<sup>23</sup> the elastic behavior of poly(acrylic acid) adsorbed on a glass substrate was studied by AFM force spectroscopy. Hereby, a distribution of “extension lengths” was given. However, as the adsorbed layer consists of an entangled network of polymer chains, this distribution rather reflects the lengths of those polymer segments in the interfacial layer, which are accessible for stretching, but not the full contour lengths of the poly(acrylic acid) chains.

In a paper by Walker et al.,<sup>24</sup> a layer of poly(dimethylsiloxane) grafted to a silica substrate was investigated by AFM in water. Again, the elastic profiles of single polymer chains were recorded, and the distribution of contour lengths of the polymer segments between

the tip and the surface was given, merely reproducing the expected polymer length distributions. However, since poly(dimethylsiloxane) is not water-soluble, these measurements were performed under bad-solvent conditions, where the tethered polymers are present in a collapsed conformation.

Here, we show the applicability of AFM-based measurements for the investigation and structural characterization of pH-sensitive polyelectrolyte chains on solid substrates. In particular, we are using poly(acrylic acid) grafted from silica substrates by controlled radical polymerization, which physically interact with an AFM tip, namely adsorbing upon approaching and desorbing upon retraction of the tip from the substrate. The measurement of the interaction forces during the desorption of individual polymer chains yields the full lengths of the adhering chains as well as their adhesion forces.

Since the conformation of poly(acrylic acid) depends on the pH of the aqueous buffer, we were able to study the effect of the solvent condition on the accuracy of the determined molecular length distributions.

The scope of this paper therefore is to investigate the experimental regimes under which the correlation of length histograms from AFM experiments with the molecular structure of the grafted polymer layers is possible.

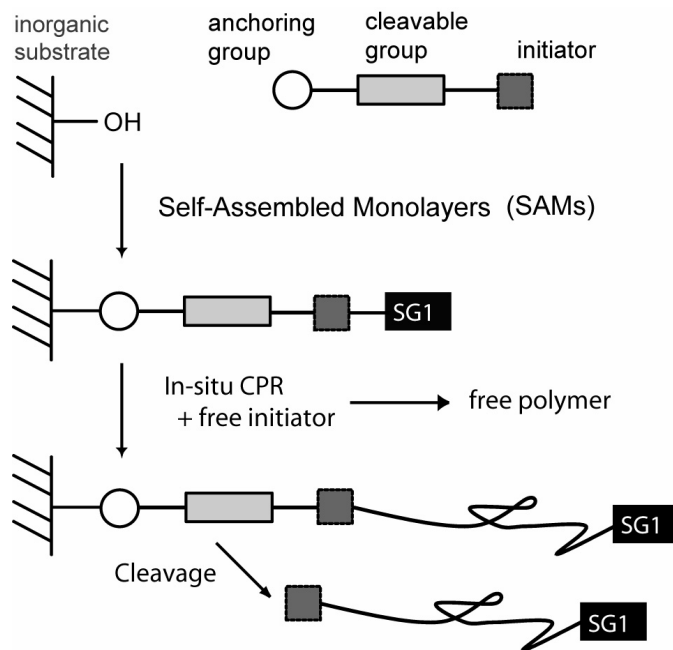
For this purpose, the AFM data will then be compared to those obtained by standard methods, namely, gel permeation chromatography (GPC) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). Our results promise the implementation of the AFM method as an analytical tool for the analysis of chain length distributions and grafting densities of substrate-grafted polymer layers.

## Materials and Methods

**Sample Preparation and Characterization.** The covalently attached polymer monolayers were synthesized via controlled/living radical polymerization using immobilized initiators. The concept is shown in Figure 1. NMP was applied for the preparation of well-defined polymer monolayers end-grafted onto silica surfaces (vinyl and acrylic monomers).<sup>25–30</sup> For this purpose, preformed functionalized azoic<sup>25,26,30,31</sup> or alkoxyamine<sup>26–29</sup> initiators were synthesized and covalently attached to silica substrates. The initiator used in this study consists of an azo group, which is structurally similar to AIBN, and two monochlorosilane headgroups ( $\text{SiMe}_2\text{Cl}$ ) that connect the initiator through silanol moieties ( $\text{SiOH}$ ) to the surface of the substrate. The ester group connecting the initiating group and the anchor group can act as a break-seal group under transesterification conditions. Hence, this ester can be cleaved after completion of the layer formation, and the polymer can be removed from the surface for bulk characterization.<sup>25–31</sup>

In the second step, radical polymerization was initiated from the surface under controlled conditions. Hereby, the acrylic monomer reacts with the surface-attached initiator. Briefly, to an initiator-grafted wafer was added a mixture of the monomer acrylic acid (AA), the

initiator 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (AIBN, ratio  $[AA]/2[AIBN] = 2000$ ), and the counter radical SG1 ( $[SG1]/[AIBN] = 2.1$ ). This mixture was thoroughly degassed and heated to 120 °C for chosen periods of time. After the polymerization time, the silicon wafer was continuously washed free of any adsorbed polymer (PAA) with water and 1,4-dioxane. Then, the wafer was dried and stocked under nitrogen.



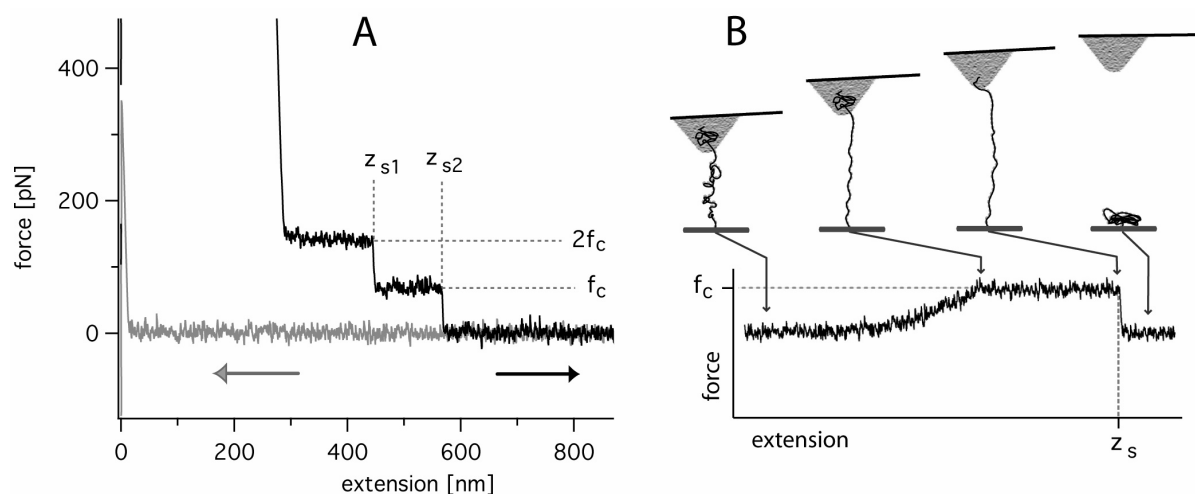
**Figure 1.** Concept for the synthesis of covalently attached polymer monolayers via controlled/living radical polymerization using immobilized initiators (grafting from technique).

In preliminary experiments, the free polymer chains were characterized with gel permeation chromatography (GPC) in THF after methylation of PAA to poly(methyl acrylate), yielding an organo-soluble polymer. GPC characterization was performed using a 2690 Waters Alliance System with THF as the eluent. It was equipped with four Styragel columns HR 0.5, 2, 4, and 6 working in series at 40°C, a 2410 Waters refractive index detector, and a 996 Waters photodiode array detector. A calibration curve established with low-polydispersity polystyrene standards was used for the determination of the molecular weights. The GPC data indicate that the (average) contour length of the chains is 590 nm with a polydispersity (PD) of 1.3. At low grafting densities ( $<0.01$  chain.nm<sup>-2</sup>) values of the polymer surface density cannot be measured with sufficiently high accuracy. Therefore, the X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) data had to be compared to the data from samples with known high grafting densities.<sup>32</sup> Analyzing the intensities of the carbon and silicon peaks in the XPS spectra, the grafting density could be estimated as  $\sim 0.005$  chain.nm<sup>-2</sup>. For further details on polymerization and characterization, the reader is referred to previous publications by Billon<sup>33</sup> and Charleux.<sup>34</sup>



**AFM Force Spectroscopy.** The force spectroscopy experiments were conducted on a home-built AFM instrument using silicon nitride cantilevers (Microlever) purchased from Veeco Instruments. Nominal spring constants were calibrated using the thermal oscillation method<sup>35</sup> before the first force-extension curve was measured.

The experimental strategy adopted in the present study assumes that substrate-grafted polymers reversibly adsorb onto the AFM tip when the tip approaches the substrate surface and desorb from the AFM tip when it retracts from the substrate. The force acting on the AFM tip upon retraction was measured. The corresponding force-extension profiles exhibit a set of characteristic plateaus resembling those obtained in earlier AFM studies on polymer desorption of tip-attached polymers from bare substrates,<sup>21,22</sup> in which the difference in the heights of the plateaus reflects the magnitude of the desorption force of a single polymer chain (Figure 2), and the plateau length is proportional to the contour length of the adsorbed chain segments.



**Figure 2.** (A) Typical force-distance curve obtained in a single molecule desorption experiment with a surface-grafted polymer monolayer and a nonfunctionalized AFM tip. Upon contacting the tip with the substrate, surface-grafted polyelectrolyte chains are allowed to adsorb on the tip. Upon retracting the tip, typically, a strong adhesive peak is observed at small tip-substrate separation. Upon further increasing the tip-substrate distance, the continuous desorption of successive chain segments is reflected by a plateau of constant force, whereas the complete desorption of the entire polymer chain results in a sudden drop of the adhesive force. (B) In rare cases, single nonadsorbed (bridging) segments between tip and substrate may still exist, which are reflected by a nonlinear increase in the stretching force before the successive desorption of adsorbed monomers sets in.

All AFM measurements were performed in an aqueous environment. The samples of substrate-grafted poly(acrylic acid) were investigated at varied pH in aqueous solution containing 100 mM NaCl. As we intended to focus on the pH-dependent properties of

poly(acrylic acid) here, a NaCl concentration of 100 mM was used in order to reduce the force contribution of electrostatic interactions between the tip and the polymer chains. To select a set of individual polymer chains, which represent the molecular weight distribution of the substrate-grafted ensemble, data were collected at different spots on the surface and thus for different poly(acrylic acid) chains.

The tip positions were chosen randomly on a  $4 \times 3 \text{ mm}^2$  area on the surface. Typically, 100 force-extension curves were measured for each investigated pH value and for each of 10 different spots of the sample. Repeated measurements on the same spot resulted in reproducible force-distance curves, indicating that no polymer chains were worn off from the substrate. Also, before and after each set of experiments (in which different surface spots were investigated), control measurements were made, in which the interaction of the AFM tip with bare silica substrates was recorded to make sure that no polymers were transferred to the AFM tip during the course of the experiment. It was found that the tip-silica interaction profile was not altered after the experiment.

The plateaus were analyzed in respect of desorption forces and plateau lengths. The results were plotted as histograms showing the statistical distributions, i.e., the number of events observed for certain desorption forces or desorption lengths, respectively. Thereby, all histograms presented in the following constitute superpositions of measurement series at different surface positions carried out under the same conditions, representing the ensemble of the surface-grafted poly(acrylic acid) molecules.

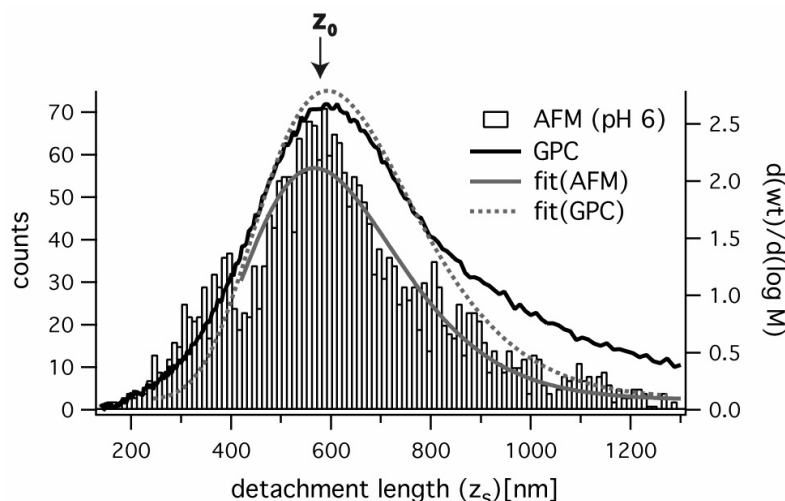
Note that because of the “unspecific” interaction of the silicon nitride tips with the substrate, force-extension curves may show a high unspecific adsorption peak at short tip-substrate distances, which under certain conditions may extend to a few hundred nanometers. Thus, only desorption events extending beyond this range can be detected in such cases. In our measurements, most of the polymer chains exhibit sufficiently large contour lengths, so that the unspecific adsorption peak does not affect the measured length distribution. (For shorter chains, the influence of the unspecific adsorption peak would manifest itself in an artificial cutoff of the distribution at shorter chain lengths.)

## Results

**Distribution of Detachment Lengths at pH 6: Comparison with GPC.** The comparison between AFM measurements (plateau length distribution) at pH 6 and GPC experiments is shown in Figure 3. Very narrow molecular weight distributions, e.g., instantaneous MWD, can be well characterized by Flory or Poisson distributions. A broader MWD can be described by log-nor distributions:<sup>36</sup>

$$P(z) = P_0 \cdot \exp \left[ -\frac{1}{2} \left( \frac{\log(z/z_0)}{t} \right)^2 \right]$$

The maximum of the distribution is characterized by  $z_0$ , corresponding to the number-average of the apparent polymer chain lengths within the interfacial layer. The width of the curve is given by  $t$ , which is related to the polydispersity over  $t = \log(\text{PD})$ . The factor  $P_0$  ensures normalization of the distribution. For the distributions shown in Figure 3, the fitting process determines  $z_0 = 592$  nm for the GPC data and  $z_0 = 572$  nm for the AFM data.

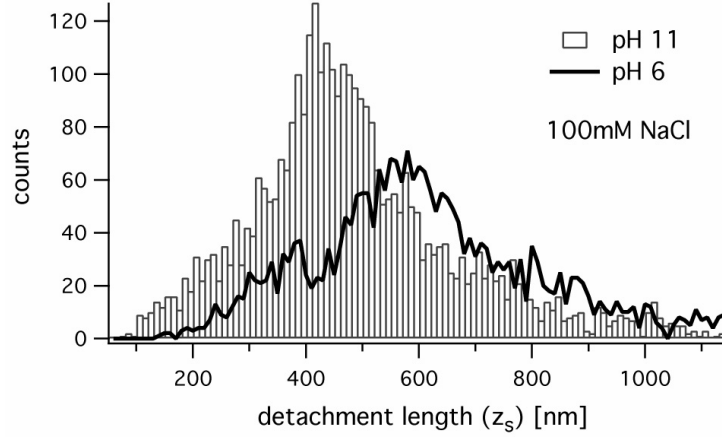


**Figure 3.** Molecular weight/length distributions obtained by single molecule force spectroscopy at pH 6 (histogram) and by GPC (black curve). Both data sets were fitted with a log-nor distribution with constant width ( $= \log(\text{PD}) = 0.26$ ), resulting in maxima positions  $z_0$  of 572 nm (solid curve) and 592 nm (dotted curve).

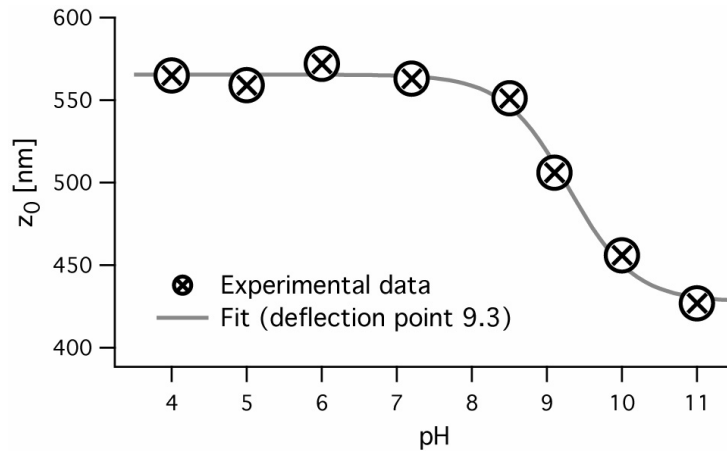
Figure 3 shows that the molecular length distributions obtained by GPC and single molecule force spectroscopy are in good agreement. Hence, single molecule force spectroscopy can be successfully applied as a tool for molecular weight determination of surface-grafted poly(acrylic acid) chains under the conditions of neutral to slightly alkaline pH. In contrast to GPC, the chains do not have to be cleaved from the substrate (cf. experimental section) but can be analyzed unaltered. In addition, unprecedented by other methods, polymer length distributions at the surface can be spatially resolved at the level of individual molecules. Further studies are required to define grafting densities and chain lengths accessible by single molecule force spectroscopy characterization.

**pH Dependence of AFM-Determined Length Distribution.** The distribution of the apparent polymer chain lengths of the surface-grafted poly(acrylic acid) molecules as observed in the desorption profiles depends on the pH (Figure 4). Thus, different measurement series were conducted for various pH values between pH 2.5 and 11. Figure 5 shows the experimentally obtained average apparent polymer lengths  $z_0$  as a function

of pH. While the maximum in the length distribution,  $z_0$ , remains merely constant at 570 nm for  $\text{pH} \leq 7$ ,  $z_0$  decreases significantly between pH 8 and 11 to  $z_0 = 430$  nm. It was further observed that the desorption forces recorded at alkaline pH were lowered by an average of  $\sim 3$  pN as compared to the desorption forces at  $\text{pH} \leq 6$  (i.e., the average desorption force of 73 pN at pH 6 drops to  $\sim 70$  pN at pH 10).



**Figure 4.** Molecular length distributions measured by single molecule force spectroscopy in aqueous buffer containing 100 mM NaCl at pH 6 and 11. The number of analyzed curves is identical ( $N = 1000$ ) for both conditions. At higher pH, the maximum position of the distribution  $z_0$  is shifted to smaller values, and the number of observed plateaus in the force-distance traces is increased.



**Figure 5.** Plot of the maximum position  $z_0$  taken from the experimentally obtained length histograms against the pH of the buffer solution.

The experimental data can be well fitted by the following empirical equation:

$$z_0 = c_1 - c_2 \cdot 10^{\text{pH} - \text{pK}^*}$$

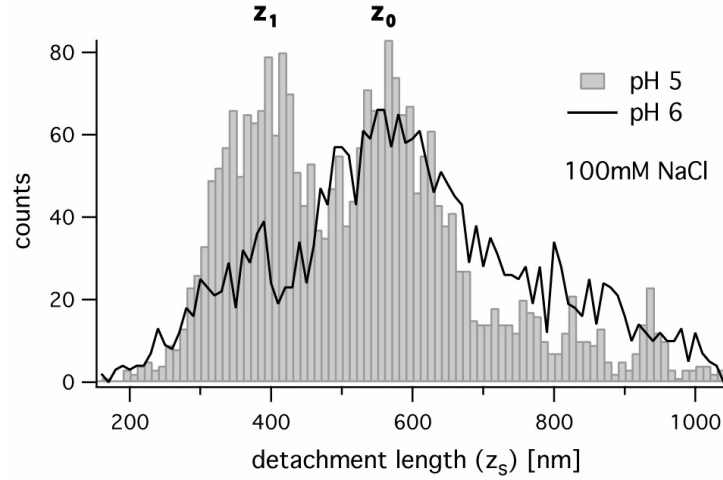
Therein,  $z_0$  is the observed average polymer length at a certain pH and  $c_1$ ,  $c_2$ , and  $pK^*$  are adjustable (fitting) parameters. The best fit gave  $c_1 = 566$  nm,  $c_2 = 140$  nm, and  $pK^* = 9.3$ . However, note that  $pK^*$  is a fit parameter, which does not necessarily correspond to the effective  $pK$  value of the acrylic acid chains in the grafted layer (which mainly depends on intermolecular Coulomb interactions).<sup>37,38</sup>

The frequency of desorption events may also be deduced from the measured desorption traces and can be given as the number of observed plateaus per curve (i.e., the number of different individual polymer chains involved in the desorption process upon retraction of the tip). This frequency was also found to depend on the pH of the buffer solution: increasing pH yields an increased number of observed plateaus per curve as seen in Figure 4 by the larger number of overall counts for the same number of analyzed desorption traces.

As the frequency of desorption events is related to the total number of chains adherent to the tip during the desorption events, one may estimate this number from the distributions: the number of chains within the contact area between tip and substrate is obtained as the integrated frequency of events divided by the number of analyzed desorption traces. For the curves shown in Figure 4, the number of analyzed traces is  $N = 1000$ . The average number of polymer chains,  $n$ , adherent to the tip throughout all AFM experiments on surface-grafted poly(acrylic acid) layers synthesized under the same conditions (as given in the experimental section) was calculated as approximately  $n = 3$ .

**Bimodal Plateau Length Distribution at pH < 6.** Upon decreasing the pH from pH 6 to pH 4, the plateau length distribution becomes bimodal. That is, the histograms of the recorded plateau lengths exhibit an additional peak at shorter lengths (Figure 6), which was not considered for the above determination of the average chain lengths  $z_0$ . While still negligible at pH 6, the second peak at lower plateau length ( $z_1 \approx 400$  nm) becomes more pronounced at pH 5, where both maxima have almost the same intensity (i.e., the same frequency of events). When further decreasing the pH (Figure 7a), the lower length peak broadens but can still be distinguished from the higher length peak (which keeps its position at  $z_0$ ). At pH 2.5 (Figure 7b), a broad distribution is observed which may be viewed as a continued broadening of the lower length peak, finally merging with the higher length peak. Hereby, the frequency of events found at  $z_0 = 570$  nm appears to remain merely unchanged.

**Estimation of Polymer Grafting Density.** The characterization of surface-grafted polymer layers in terms of grafting densities with single molecule force spectroscopy requires the knowledge of the AFM tip size and the number of grafted polymer chains under the tip area. For the microlever tips used in our experiments a tip curvature radius of 20-40 nm is reported by the distributor. It can be assumed that the area on the substrate in contact with the tip during the experiment is of approximately the same size (i.e., a



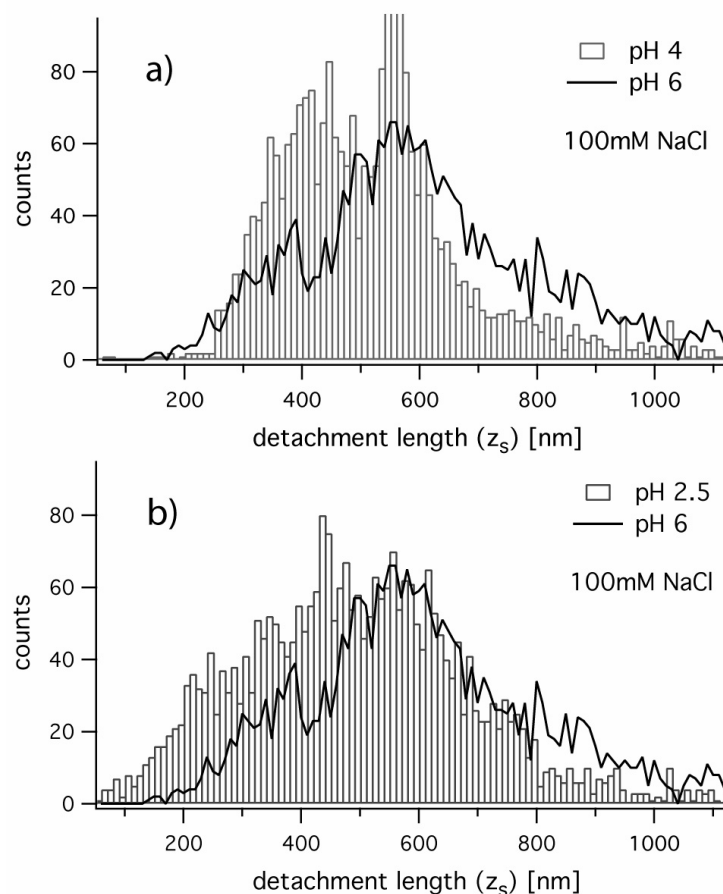
**Figure 6.** Molecular length distributions measured by single molecule force spectroscopy at pH 5 and 6. The number of analyzed curves is identical ( $N = 1000$ ). At pH 5, a bimodal distribution is observed (maximum positions are noted  $z_1$ ,  $z_0$ ).

contact area of approximately 1000-5000 nm<sup>2</sup> may be assumed). The number of grafted molecules within that range should in the ideal case be equal to the number of adherent chains as observed in the experiments. That is, by measuring the average number of grafted chains adhering to the tip, the grafting density of polymer chains at the surface may be estimated. For example, when assuming a curvature radius of the silicon nitride probe of 20 nm, a grafting density of  $\sigma = 0.002 \text{ chain.nm}^{-2}$  is calculated (cf. Discussion of Figure 4 above: an average of three chains is observed within the contact region; thus,  $\sigma = 3 \text{ chains}/(\pi(20 \text{ nm})^2)$ ).

For comparison, the grafting density was also estimated from the signal intensities of carbon and silicon peaks in the XPS spectra. The obtained value of  $\sigma = 0.005 \text{ chain.nm}^{-2}$  is of the same order of magnitude as the value obtained by AFM. Taking into account the average contour length of the chains estimated both from GPC data and from the plateau length distribution, we can conclude that the average area per grafted chain is comparable to, or larger than, the square gyration radius of the polymer coil. Hence, intermolecular interactions between neighboring grafted chains are weak, at least in the neutral or weakly acidic pH range. (Note that in 100 mM sodium chloride solution the Debye screening length is  $\sim 1 \text{ nm}$  so that long-range Coulomb intermolecular interactions are screened off.)

## Discussion

The interpretation of the force-extension spectra may be based on a set of established theoretical models. The pulling-off of a neutral polymer chain from an adsorbing substrate in good or theta-solvent was theoretically analyzed in refs 39 and 40. It was demonstrated



**Figure 7.** Molecular length histograms observed under acidic conditions: (a) pH 4; (b) pH 2.5 (each plotted in comparison to the molecular length distribution for pH 6).

that the progressive detachment of a preadsorbed chain from the adsorbing surface occurs when a constant pulling force,  $f_c$ , is applied to one end of the chain. The magnitude of this pulling force,  $f_c$ , which is necessary to induce desorption of the chain, is proportional to the “binding energy” (per monomer) divided by the monomer size. This force, which is directly measured in the AFM experiment, increases with increasing adsorption strength. Upon the desorption process, the polymer chain can be envisioned as partially desorbed, i.e., consisting of an adsorbed segment (comprising  $N_{ads}$  monomers) and a uniformly extended segment (comprising  $N_{bridge}$  monomers), bridging the chain end to the adsorbing surface.

The elastic tension in the bridging segment is equal to the desorption force,  $f_c$ . Therefore, the degree of extension of the bridging segment,  $z/(aN_{bridge}) \sim f_c a/k_B T$ , increases with increasing strength of adsorption (here,  $z$  is the distance between the tip and the substrate, i.e., the apparent length of the extended bridging segment of the chain, to which the force  $f_c$  is applied;  $a$  is the monomer length under “zero force”). At strong

adsorption,  $f_c a / k_B T > 1$ , the bridging segment is almost completely extended, that is,  $z / (a N_{bridge}) \approx 1$ .

The net free energy of the entire polymer chain comprises the (negative) contribution of the adsorbed segment and the entropic penalty for the extension of the bridging segment. If the retreat of the chain end from the surface occurs at an infinitely slow rate, the system can be considered in perfect equilibrium. As the successive detachment of monomers of the adsorbed segment from the tip surface continues, the number of monomers in the extended bridging segment,  $N_{bridge}$ , increases, while the number of monomers in the adsorbed chain segment,  $N_{ads}$ , decreases. Hereby, the total free energy of the polymer chain continuously increases, as the increasing fraction of monomers in the bridging segment contributes an increasing conformational entropic penalty, while the free energy gain of the adsorbed segment continuously decreases in proportion to the continuously decreasing number of adsorbed monomers. In perfect equilibrium, the resulting net increase of the desorbing polymer chain upon increasing the tip-surface separation by  $z$  is equal to the stretching energy,  $f_c \Delta z$ .

At a certain tip-surface distance (i.e., certain length of the extended polymer segment), the free energy gain in the adsorbed segment is exactly counterbalanced by the conformational entropy penalty in the bridge; this distance may be termed  $z_b$ . At this point, the adsorbed state of the polymer chain is no longer energetically favored over the desorbed state of the polymer chain, which would thermodynamically favor the full desorption of the remaining adsorbed chain segment at  $z_b$ .

However, for complete desorption, the adsorbed segment has to overcome a potential barrier (activation barrier), the height of which is proportional to  $(f_c a)^2 N_{ads} / k_B T$  and thus much larger than  $k_B T$ . This activation barrier provides a kinetic hindrance for the full desorption of the remaining adsorbed chain segments. In perfect equilibrium (i.e., under conditions of infinitely slow stretching), the activation barrier would be overcome by the adsorbed chain segments at a natural off-rate, and full desorption of the entire polymer chain from the tip would be observed at  $z_b$ .  $z_b$  thus reflects the lowest limit of the experimentally measured “apparent” polymer chain length.

In a real experiment, the stretching rate is finite. Thus, for a sufficiently high activation barrier, the continuous desorption of successive monomers from the tip may continue even upon an increase in  $z > z_b$ . Hereby, the necessary pulling force,  $f_c$ , remains constant, and the system follows a sequence of metastable states with decreasing number of monomers  $N_{ads}$  in the adsorbed segment. Hereby, the (unfavorable) elastic free energy in the bridge continues to rise as  $N_{bridge}$  increases and the (favorable) adsorption energy of the adsorbed segment continues to fall as  $N_{ads}$  decreases. Simultaneously, as  $N_{ads}$  decreases, the height of the free energy barrier decreases as well and will become of the order of  $k_B T$  at a point, which may be termed  $z = z_s > z_b$ . That is, the barrier separating the adsorbed state of the polymer chain from the desorbed state of the polymer chain becomes of the order of  $k_B T$ .  $z_s$  therefore reflects the maximum “apparent” chain length, which may be observed



under the real experimental conditions of finite stretching rates, which will not always be reached as stochastic fluctuations may naturally drive the system also over activation barriers larger than  $k_B T$ .

However, the larger the adsorption strength of the adsorbed monomers at the tip surface is, the larger will be, both, the free energy contribution of the adsorbed monomers and the potential barrier between the adsorbed and the desorbed state of the polymer chain (i.e., the activation barrier for full desorption). As a result,  $z_s$  will become larger, too. Namely, the experimentally observed  $z_s$  will become comparable to the actual polymer chain length,  $L$ .

It should be noted that, in contrast to the unbinding of single molecular bonds, such as ligand-receptor bonds, which have been extensively studied by force spectroscopy,<sup>9,41,42</sup> in the continuous desorption process of polymer chains two different types of unbinding events need to be considered: the successive unbinding of individual segments (which repeatedly occurs in a zipper-type mechanism) and the instantaneous and complete desorption of the adsorbed polymer chain end (in which, ultimately, all remaining adsorbed segments detach at once). The unbinding of an individual segment occurs at a much higher speed than the pulling rates accessible in the AFM experiment. Thus, no dependence of the plateau force, which resembles the unbinding force of individual segments, is observed. However, there is a rate dependence of the observed unbinding length originating from the second “unbinding event”. As discussed above, during the desorption process, the remaining adsorbed chain end continuously shortens. As a result, the “bond” between the adsorbed polymer chain end and the substrate becomes continuously weaker until, at a critical length, its unbinding rate becomes comparable to the experimental pulling speed. Upon varying the pulling speed, this critical length of the remaining adsorbed polymer end naturally varies as well. Thus, the observed critical length is a function of pulling speed, and thus is the “apparent” chain length, while the unbinding force is *not* rate-dependent (as it is always limited by the unbinding force of the ongoing process of the continuous desorption of the individual segments). Note that if the adsorption strength is high, the critical point is reached very close to the actual chain end.

While our model neglects excluded-volume interactions and/or finite extensibility of the chain, the following main trends remain valid: (i) the detachment distance  $z_s$  is proportional to the contour length  $L$  of the chain,  $z_s = \varphi L$ , and (ii) the proportionality coefficient  $\varphi$  increases with increasing adsorption strength, approaching unity for strong adsorption. Hence, the distribution of the detachment lengths,  $z_s$ , measured in the AFM experiment can be directly related (with a rescaling factor that depends on the adsorption strength) to the molecular weight distribution in the ensemble of the polymer chains probed in the pulling-off experiment. For strong adsorption, the distribution of desorption lengths measured by AFM should directly resemble the distribution of the polymers’ contour lengths (i.e., their “real” molecular weight distribution).

The adsorption of poly(acrylic acid) chains onto the negatively (that is, similarly) charged

silicon nitride (effectively, silicon oxide) surface of the tip is nonelectrostatically driven. Moreover, the fraction of charged monomers (equal to the degree of ionization) and the surface charge density are simultaneously affected in the present system by the variation of the pH. For a PAA chain interacting with the tip surface, both, the repulsive intramolecular Coulomb interaction and the polymer-surface interaction are pH-dependent via the pH-dependent degrees of ionization of AA monomers and Si-OH functions on the tip surface. The observed pH dependence of the measured plateau lengths may therefore be interpreted in terms of decreasing strength of adsorption at high pH, resembling a decrease in the force-dependent proportionality factor  $\varphi$ . Indeed, upon an increase in pH, the negative ionic charge of both the adsorbed segments of the PAA chains and the tip surface are known to increase. Therefore, the Coulomb repulsion between the polymer and the surface becomes stronger and the adsorption strength between the tip surface and the PAA chains becomes weaker, which is also reflected in the decrease of the measured desorption forces at high pH.

PAA is a weak acid; the  $pK_a$  for individual AA monomer is  $\sim 5.5$ . In the polymer, the dissociation of AA units results in an intramolecular Coulomb repulsion between dissociated, and thus negatively charged, neighboring carboxylic groups. Therefore, the effective  $pK$  of AA units in a polymer is larger and depends on the salt concentration (the  $pK$  decreases with increasing ionic strength of the solution due to screening of intramolecular Coulomb interaction). Moreover, segments of PAA chains adsorbed onto the negatively charged surface are ionized less than those far from the surface due to the lower local electrostatic potential (lower local pH) in the vicinity of the negatively charged surface.<sup>38</sup> At  $pH > pK$ , most of the monomers are ionized, and intramolecular Coulomb repulsion (partially screened by salt) acts as an excluded-volume interaction ensuring the swelling of the grafted polymer chains. This scenario therefore holds true for the above discussion of our results in neutral to alkaline aqueous buffer, which thus constitutes a good solvent for PAA.

Below approximately pH 5.5, when the carboxylate groups become protonated and thus uncharged, the quality of water as a solvent for PAA significantly decreases. The variation of pH in our experiments therefore has a similar effect as the variation of the solvent strength in the case of nonionic polymers.

The high polymer density in the collapsed PAA chain suppresses the ionization of monomers due to the lowering of the local electrostatic potential and the decreasing of the effective dielectric constant of the medium. As a result, the collapse transition within individual chains occurs discontinuously, so that collapsed (weakly ionized) and swollen (ionized) states may coexist.<sup>43</sup>

If a collapsed polymer globule (with dominating attractive monomer-monomer interactions under poor solvent conditions) is brought into contact with the adsorbing tip surface, the following scenarios can be distinguished:<sup>44</sup> (i) Monomer-monomer attraction is stronger than the monomer-surface attraction. Then, no significant perturbation in the globule

conformation (no adsorption to the tip) takes place. (ii) Monomer-surface attraction is stronger than monomer-monomer attraction. Then, the globule spreads on the surface (strong adsorption) and the detachment of the adsorbed chain by the applied pulling-off force occurs similarly to the scenario described above. (iii) Monomer-monomer and monomer-surface attraction are comparable, and the globule adsorbs onto the surface (“wets” the surface with a finite contact angle). In this “transition regime” more sophisticated patterns in the detachment force-extension spectra are to be expected. The distribution of the plateau lengths can no longer be directly recalculated into a molecular length distribution.

In the pH range around pH 5, the PAA chains in the solution (and the bridging segments) are slightly protonated (marginally good solvent quality of water), while the surface charge density is still large ( $pK$  of the surface OH groups is around 2-3). As a result, the local pH in the vicinity of the surface may drop below the  $pK$  of PAA. This may cause the collapse of the chain segments proximal to the surface.

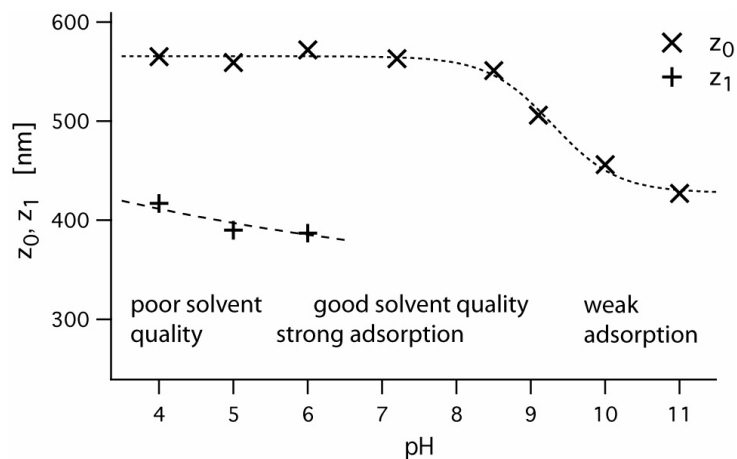
A second important effect in this pH regime is the possible adsorption of the grafted polymer chains on the substrate. In this context, it is important to note that the silica substrate is modified by silanization prior to polymerization, which means that it has a different, i.e., more hydrophobic, character than the bare silica tip. It is therefore reasonable to assume that adsorption of the (slightly protonated) grafted poly(acrylic acid) chains becomes more favorable and thus competes with tip adsorption. As has been demonstrated earlier,<sup>45</sup> an enhanced attraction to the grafting surface generally leads to a segregation of grafted chains into two populations: adsorbed and extended ones. These different chain conformations may result in the appearance of the bimodal plateau length distribution. Further analysis, including the study of grafted polymer layers with higher grafting density, will help to elucidate this effect.

When the pH is further lowered (pH 4 - pH 2), the acrylic acid groups become fully protonated. In addition, the SiOH groups on the tip surface also get protonated; i.e., both the intramolecular and polymer-surface Coulomb repulsion vanish. The distribution of the measured plateau lengths flattens off, while the average length decreases as compared to that measured at high pH. This reflects a variety of different metastable states upon pulling-off the collapsed PAA chain from the tip surface. Hence, in this pH range, there is no simple relation between observed distribution of the plateau length and molecular weight distribution of grafted polymers.

Note that, generally, a quantitative prediction of the desorption force magnitude is not possible since the relevant adsorption energy comprises several contributions, which cannot be calculated unambiguously. For example, the magnitude of shortrange van der Waals attractions depends strongly on the polymer-substrate distance (which cannot be predicted), while the Coulomb repulsion depends on the unknown surface charge density or surface potential. Nevertheless, our results qualitatively support our theoretical model, as we have demonstrated that an increase in pH, which is expected to lower the net adsorp-

tion strength, indeed results in decreasing plateau length and force magnitude.

Figure 8 shows a summary of our observations. It illustrates the effects of poor solvent quality (splitting of the desorption length distribution at low pH) as well as the effects of weak polymer-tip adsorption (decrease of the average desorption length at high pH). In the intermediate regime, the desorption length distribution measured by AFM reflects the molecular length distribution of PAA as determined by GPC. On the basis of our discussion above, it is thus concluded that AFM desorption measurements allow for the analysis of the molecular length distribution of substrate-grafted polymers in the regime of good solvent quality and strong tip adsorption.



**Figure 8.** Measured maxima of the length distributions in dependence of the pH of the aqueous buffer (see also Figure 5).

## Summary

We have applied AFM-based force spectroscopy for the characterization of monolayers of end-grafted poly(acrylic acid) (PAA) chains, which were obtained by means of surface-initiated nitroxide-mediated polymerization from a silica surface. The distribution of the characteristic desorption lengths of the polymer chains in the measured force-extension curves and their corresponding desorption forces were recorded under conditions of varying pH of the aqueous buffer solution. Hereby, the plateau length distributions were found to depend not only on the real chain length of the grafted polymers but also on the chain conformation governed by intramolecular interactions and solvent quality as well as the strength of adsorption of AA monomers on the AFM tip. This relationship follows from known theories, and it is confirmed by comparison to the GPC data on free polymers. For sufficiently good solvent quality and strong adsorption of the polymer chains to the AFM tip, the desorption length distribution coincides with the molecular length distribution of the substrate-grafted polymers. The latter can thus be directly measured in AFM

desorption experiments.

**Acknowledgment.** The work was financially supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) through SFB 486 and by Deutscher Akademischer Austauschdienst (DAAD) and EGIDE through the PROCOPE program. J.P. gratefully acknowledges financial support by Marie Curie Fellowship.

## References and Notes

- (1) Fischer, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 3925-3927.
- (2) Fischer, H. *Macromolecules* **1997**, 30, 5666-5672.
- (3) von Werne, T.; Patten, T. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 7497- 7505.
- (4) Matyjaszewski, K. *J. Phys. Org. Chem.* **1995**, 8, 197-207.
- (5) Matyjaszewski, K. *Macromol. Symp.* **2001**, 174, 51-67.
- (6) Matyjaszewski, K. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **1996**, 1, 769-776.
- (7) Matyjaszewski, K.; Miller, P. J.; Shukla, N.; Immaraporn, B.; Gelman, A.; Luokala, B. B.; Siclován, T. M.; Kickelbick, G.; Vallant, T.; Hofmann, H.; Pakula, T. *Macromolecules* **1999**, 32, 8716-8724.
- (8) Georges, M. K.; Veregin, R. P. N.; Kazmair, P. M.; Hamer, G. K. *Macromolecules* **1993**, 26, 2987-2988.
- (9) Florin, E. L.; Moy, V. T.; Gaub, H. E. *Science* **1994**, 264, 415-417.
- (10) Rief, M.; Oesterhelt, F.; Heymann, B.; Gaub, H. E. *Science* **1997**, 275, 1295-1297.
- (11) Clausen-Schaumann, H.; Seitz, M.; Krautbauer, R.; Gaub, H. E. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, 4, 524-530.
- (12) Janshoff, A.; Neitzert, M.; Oberdorfer, Y.; Fuchs, H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, 39, 3213-3237.
- (13) Goodman, D.; Kizhakkedathu, J. N.; Brooks, D. E. *Langmuir* **2004**, 20, 6238-6245.
- (14) Grandbois, M.; Beyer, M.; Rief, M.; Clausen-Schaumann, H.; Gaub, H. E. *Science* **1999**, 283, 1727-1730.
- (15) Rief, M.; Gautel, M.; Oesterhelt, F.; Fernandez, J. M.; Gaub, H. E. *Science* **1997**, 276, 1109-1112.
- (16) Minko, S.; Roiter, Y. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2005**, 10, 9-15.
- (17) Hugel, T.; Grosholz, M.; Clausen-Schaumann, H.; Pfau, A.; Gaub, H. E.; Seitz, M. *Macromolecules* **2001**, 34, 1039-1047.
- (18) Senden, T. J.; di Meglio, J.-M.; Auroy, P. *Eur. Phys. J. B* **1998**, 3, 211-216.
- (19) Chatellier, X.; Senden, T. J.; Joanny, J.-F.; Meglio, J.-M. d. *Europhys. Lett.* **1998**, 41, 303-308.
- (20) Conti, M.; Bustanji, Y.; Falini, G.; Ferruti, P.; Stefoni, S.; Samori, B. *ChemPhysChem* **2001**, 2, 610-613.
- (21) Seitz, M.; Friedsam, C.; Jöstl, W.; Hugel, T.; Gaub, H. E. *ChemPhysChem* **2003**,

- 4, 986-990.
- (22) Friedsam, C.; Becares, A. D. C.; Jonas, U.; Seitz, M.; Gaub, H. E. *New J. Phys.* **2004**, 6, Art. No. 9.
- (23) Li, H.; Liu, B.; Zhang, X.; Gao, C.; Shen, J.; Zou, G. *Langmuir* **1999**, 15, 2120-2124.
- (24) Al-Maawali, S.; Bemis, J. E.; Akhremitchev, B. B.; Leecharoen, R.; Janesko, B. G.; Walker, G. C. *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105, 3965-3971.
- (25) Parvole, J.; Billon, L.; Montfort, J. P. *Polym. Int.* **2002**, 51, 1111-1116.
- (26) Parvole, J.; Laruelle, G.; Guimon, C.; Francois, J.; Billon, L. *Macromol. Rapid Commun.* **2003**, 24, 1074-1078.
- (27) Husemann, M.; Morrison, M.; Benoit, D.; Frommer, J.; Mate, C. M.; Hinsberg, W. D.; Hedrick, J. L.; Hawker, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 1844-1845.
- (28) Bartholome, C.; Beyou, E.; Bourgeat-Lami, E.; Chaumont, P.; Zydowicz, N. *Macromolecules* **2003**, 36, 7946-7952.
- (29) Laruelle, G.; Parvole, J.; Francois, J.; Billon, L. *Polymer* **2004**, 45, 5013-5020.
- (30) Parvole, J.; Montfort, J. P.; Billon, L. *Chem. Phys.* **2004**, 205, 1369-1378.
- (31) Prucker, O.; Ruhe, J. *Macromolecules* **1998**, 31, 592-601.
- (32) All samples to be compared were prepared on the same silicon wafer.
- (33) Laruelle, G.; Francois, J.; Billon, L. *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, 25, 1839-1844.
- (34) Couvreur, L.; Lefay, C.; Belleney, J.; Charleux, B.; Guerret, O.; Magnet, S. *Macromolecules* **2003**, 36, 8260-8267.
- (35) Butt, H.-J.; Jaschke, M. *Nanotechnology* **1995**, 6, 1-7.
- (36) Maschio, G.; Scali, C. *Macromol. Chem. Phys.* **1999**, 200, 1708-1721.
- (37) Israels, R.; Leermakers, F. A. M.; Fleer, G. J. *Macromolecules* **1994**, 27, 3087-3093.
- (38) Borisov, O. V.; Boulakh, A. B.; Zhulina, E. B. *Eur. Phys. J. E* **2003**, 12, 543-551.
- (39) Eisenriegler, E.; Kremer, K.; Binder, K. *J. Chem. Phys.* **1982**, 77, 6296-6320.
- (40) Klushin, L. I.; Skvortsov, A. M.; Leermakers, F. A. M. *Phys. Rev. E* **2002**, 66, 036114.
- (41) Evans, E.; Ritchie, K. *Biophys. J.* **1997**, 72, 1541-1555.
- (42) Merkel, R.; Nassoy, P.; Leung, A.; Ritchie, K.; Evans, E. *Nature (London)* **1999**, 397, 50-53.
- (43) Raphael, E.; Joanny, J.-F. *Europhys. Lett.* **1990**, 13, 623-628.
- (44) Johnner, A.; Joanny, J.-F. *J. Phys. II* **1991**, 1, 181-194.
- (45) Zhulina, E. B.; Borisov, O. V.; van Male, J.; Leermakers, F. A. M. *Langmuir* **2001**, 17, 1277-1293.

## D Quantitative Single Molecule Measurements on the Interaction Forces of Poly(L-Glutamic Acid) with Calcite Crystals

Lars Sonnenberg, Yufei Luo, Helmut Schlaad, Markus Seitz, Helmut Cölfen  
and Hermann E. Gaub

### Abstract

The interaction between poly(L-glutamic acid) (PLE) and calcite crystals was studied with AFM-based single molecule force spectroscopy. Block copolymers of poly(ethylene oxide) (PEO) and PLE were synthesized and covalently attached to the tip of an AFM cantilever. In so-called desorption measurements the molecules were allowed to adsorb on the calcite crystal faces and afterwards successively desorbed. The corresponding desorption forces were detected with high precision, showing for example a force transition between the two blocks. Due to its importance in the crystallization process in biominerals the PLE-calcite interaction was investigated as a function of the pH as well as the calcium concentration of the aqueous solution. The sensitivity of the technique was underlined by resolving different interaction forces for calcite (104) and calcite (100).

### Introduction

Biominerals are composite or hybrid materials consisting of an inorganic crystal phase and an organic phase with outstanding materials properties and hierarchical organization.<sup>1</sup> These advanced features are the result of a precise control of crystallization and self-organization processes by soluble and insoluble organic molecules. Biominerals are thus considered as archetypes for future advanced materials.

Many of the soluble organic polymers, which can be extracted from biominerals, are extraordinarily acidic.<sup>2–5</sup> Matrix proteins in biominerals typically contain 30–40% of aspartic acid (D) or glutamic acid (E) residues.<sup>6,7</sup> The acidic residues can interact with calcium, which is the basis for many biominerals like calcium carbonates and phosphates. Acidic macromolecules are therefore considered to play a key role in biomineralization processes.<sup>5</sup> Based on this knowledge, synthetic model polymers have been designed and widely applied

for the control of crystallization processes.<sup>8,9</sup> Especially successful are the so-called double hydrophilic block copolymers, which allow for a precise control of crystallization due to the separation of binding and stabilizing moieties.<sup>10,11</sup> Nevertheless, detailed and quantitative knowledge of the polymer-crystal interaction is still lacking and with it a quantitative explanation for face specific polymer binding (e.g. certain acidic proteins interact selectively in vitro with calcite crystal faces<sup>12,13</sup>), which could verify computer modeling predictions on such interactions.<sup>14</sup> It is therefore not only important for the fundamental understanding of biomineralization processes to quantify the polymer-crystal interactions, but also for the understanding of additive controlled crystallization in general concerning topics such as face selective polymer adsorption<sup>9,12,13</sup>, oriented attachment<sup>15</sup> or mesocrystal formation<sup>16</sup>, where face selective additive adsorption is of importance for the subsequent morphogenesis process by self assembly to ordered nanoparticle superstructures or by further crystal growth. The collection of such data is thus a most important prerequisite to transfer the lessons from nature into the synthetic materials world.

AFM-based single-molecule force spectroscopy allows for the precise measurement of the interaction forces of single polymers with solid (mineral) surfaces.<sup>17,18</sup> In so-called desorption measurements single molecules are covalently attached to an AFM tip and are allowed to adsorb on the mineral substrate. Then, they are successively desorbed in an equilibrium process by separating the AFM tip from the substrate surface (Figure 3). The measured force-distance traces exhibit plateaus of constant force, from which the specific interaction of the polymeric molecules and the mineral surface can be obtained in a quantitative manner.

In order to elucidate the yet unknown polymer interaction with the mineral phase, we have applied AFM-desorption measurements to quantitatively investigate the interaction of poly(L-glutamic acid) (PLE) with calcite ( $\text{CaCO}_3$ ) crystal faces on the single molecule level. For this, a triblock copolymer consisting of a polyamine block for chemical coupling to the AFM tip, a PEO block as hydrophilic spacer and the PLE block as interacting block was synthesized and coupled to the AFM tip. In the context of this study two key aspects were addressed: a) The impact of experimental conditions (pH, Ca-concentration) on the molecular interaction of PLE with the calcite surface, and b) the impact of crystal face on the molecular interaction of PLE with the calcite surface.

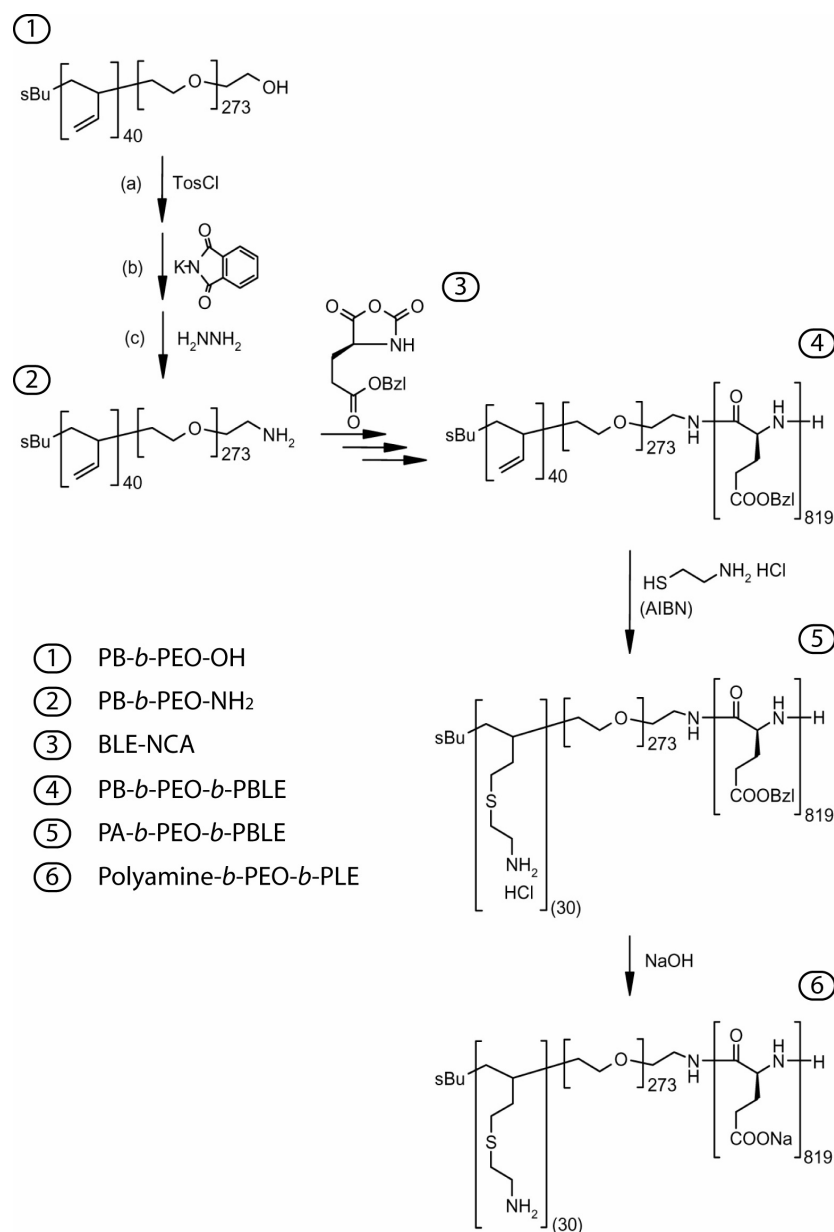
## Materials and Methods

**Polymer Synthesis (Polyamine-*b*-PEO-*b*-PLE).** A double hydrophilic block copolymer consisting of poly(ethylene oxide) (PEO) and poly(L-glutamic acid) (PLE) and which also carries primary amine functions was designed for the AFM-based single molecule force spectroscopy measurements. The polyamine block allows for the covalent attachment of the block copolymer to the AFM tip with high efficiency and long-term stability due to the multiple binding sites (see also further below). For this study the PLE



was of main importance as its interaction with calcite crystal surfaces was investigated. The PEO has been included for several reasons: i) PEO-*b*-PLE form together a double hydrophilic block copolymer, which are of special importance for drug delivery<sup>19</sup>, as crystallization additive or particle stabilizer in water (Ref. 10), ii) in single molecule force spectroscopy experiments by means of an AFM, PEO is often used as a spacer to avoid interactions of the molecules of interest with the (tip) surface.

All reagents and solvents were purchased from Sigma-Aldrich. The synthetic pathway is visualized in Figure 1.



**Figure 1.** Schematics of the synthesis of PEO-*b*-PLE carrying primary amine functions.

$\omega$ -Hydroxy-polybutadiene-*block*-poly(ethylene oxide) (PB-*b*-PEO-OH):

PB-*b*-PEO-OH was synthesized by anionic polymerization of ethylene oxide (EO) using an  $\omega$ -hydroxy-1,2-polybutadiene (average number of repeating units: 40), as reported by Justynska et al.<sup>20</sup> The characterization with nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) and size exclusion chromatography (SEC) yielded the following results:  $^1\text{H}$  NMR: mole fraction EO = 0.87, SEC: PDI = 1.05 (apparent polydispersity index).

 $\omega$ -Amino-polybutadiene-*block*-poly(ethylene oxide) (PB-*b*-PEO-NH<sub>2</sub>):

(a) PB-*b*-PEO-OH (0.5 g) was dissolved in 20 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, and then p-tosyl chloride (0.19 g) and triethylamine (0.095 g) were added under an argon atmosphere. The solution was heated to reflux overnight. The solution was afterwards concentrated to about 5 ml and precipitated into diethyl ether. The product (PB-*b*-PEO-OTos) was collected through centrifugation, re-precipitated three times and dried in vacuum.

(b) In a 25 ml three-necked round-bottom flask, PB-*b*-PEO-OTos (0.2 g), potassium phthalimide (0.093 g) and tetra-*n*-butylammonium bromide (0.02 g) were suspended in 10 ml N,N-dimethylformamide (DMF) under vigorous stirring. The mixture was gradually warmed to 100°C in an oil bath and stirred at this temperature overnight. After cooling down to room temperature, the mixture was condensed to 2 ml and precipitated into diethyl ether. The obtained yellow solid was dissolved in CHCl<sub>3</sub> and the solution passed through a filter. The product (PB-*b*-PEO-phthalimide) was then precipitated again in diethyl ether and dried in vacuum.

(c) PB-*b*-PEO-phthalimide (0.2 g) was dissolved in a mixture of dioxane (20 ml) and methanol (10 ml) and then hydrazine monohydrate (1 ml) was added. The solution was heated to reflux with stirring overnight. After the solvent was evaporated, 0.5 N aqueous HCl was added and the mixture stirred for 15 minutes. After dilution with 15 ml of water and heating for 1 hour, the solution was filtered and dialyzed against deionized water (MWCO: 3500 Da). The PB-*b*-PEO-NH<sub>2</sub> was then isolated by freeze-drying.

 $\gamma$ -Benzyl L-glutamate-N-carboxyanhydride (BLE-NCA):

$\gamma$ -Benzyl L-glutamate (5 g) was suspended in a mixture of  $\alpha$ -pinene (6.57 ml, 5.74 g) and ethyl acetate (20 ml) (freshly distilled from CaH<sub>2</sub>). The suspension was heated to reflux (76 °C) and a solution of triphosgene (3.13 g) in ethyl acetate (9.5 ml) was slowly added under stirring. After a clear solution was formed, 75 ml of heptane was slowly added under good stirring. The solution was cooled to -10 °C, kept overnight at this temperature, and then rapidly filtered. The solid NCA was recrystallized twice from ethyl acetate/heptane 1:4 (v/v), washed twice with heptane, and dried in vacuum at room temperature.<sup>21</sup>

Polybutadiene-*block*-poly(ethylene oxide)-*block*-poly( $\gamma$ -benzyl L-glutamate) (PB-*b*-PEO-*b*-PBLE):

PB-*b*-PEO-NH<sub>2</sub> and BLE-NCA were weighted in separate two-neck flasks and dried overnight at room temperature in vacuum. The flasks were filled with argon and DMF (distilled

from  $\text{CaH}_2$  and from  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) was added (3 ml and 5 ml, respectively). The mixtures were stirred at room temperature until complete dissolution, and then the solution of the NCA was added to the polymer via a transfer needle. The combined solution was stirred for 3 days at 60 °C, and then the solution was cooled down to room temperature and concentrated to 3 ml. The product was afterwards precipitated into diethyl ether and dried under reduced pressure.

$^1\text{H}$  NMR: 819 BLE repeating units, SEC: PDI = 1.4 (apparent polydispersity index) (see Supporting Information, Figures SI-1 and SI-2).

Poly(4-(2-(amino hydrochloride)-ethylthio)-butylene)-*block*-poly(ethylene oxide)-*block*-poly( $\gamma$ -benzyl L-glutamate) (PA-*b*-PEO-*b*-PBLE):

In a 25 ml three-necked round-bottom flask, PB-*b*-PEO-*b*-PBLE (0.150 g) and 2-aminoethanethiol hydrochloride (0.023 g) were dissolved in 5 mL DMF. Under stirring, the solution was saturated with nitrogen for 30 minutes. Azobisisobutyronitrile (AIBN, 0.004 g) was then added, and the solution was stirred for 24 h at 60 °C. The product was precipitated into diethyl ether, filtered, redissolved in DMF/water 1:1 (v/v) and dialyzed against deionized water. After freeze-drying, the triblock copolymer with pendant amine groups was obtained as a white powder.

About 30 amino groups should be attached to the  $\alpha$ -chain end of PEO-*b*-PBLE, considering an efficiency of thiol addition of  $\sim 75\%$  (see ref. 20).

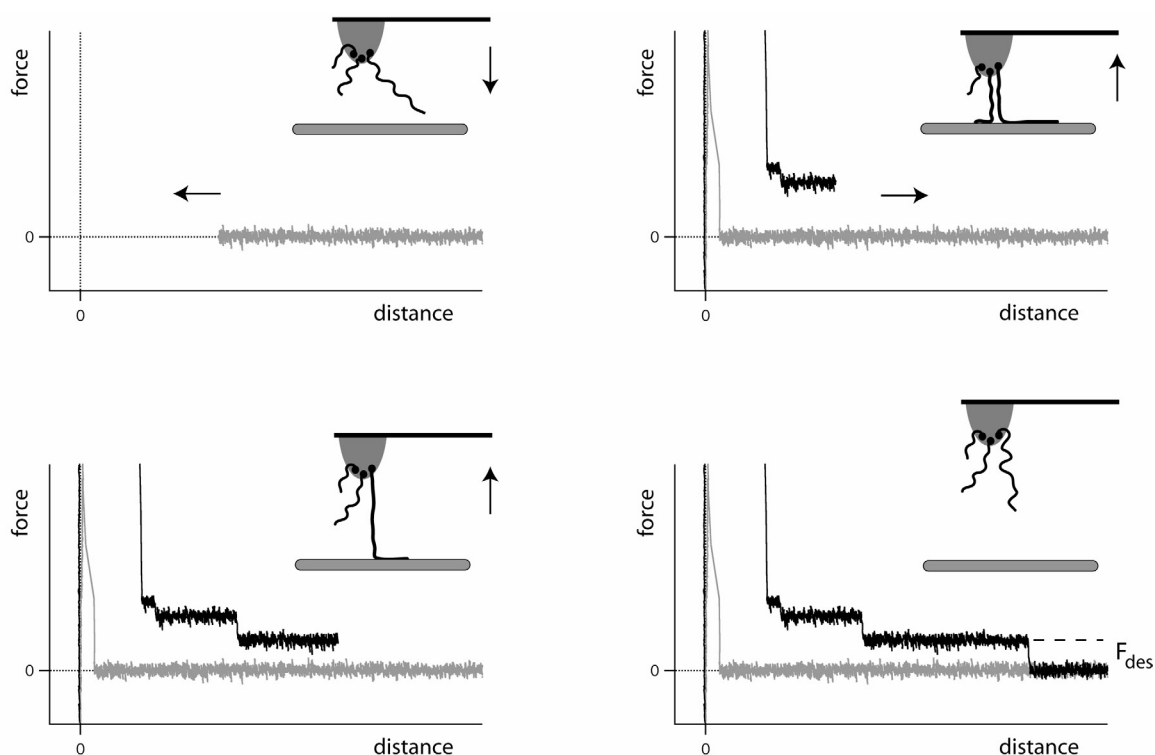
Poly(4-(2-amino-ethylthio)-butylene)-*block*-poly(ethylene oxide)-*block*-poly(L-glutamate) (Polyamine-*b*-PEO-*b*-PLE):

The Polyamine-*b*-PEO-*b*-PBLE (0.100 g) was dissolved in a mixture of DMF (5 ml) and water (5 ml), and the solution was saturated with nitrogen for 10 minutes. 0.1 N NaOH (0.5 ml) was added under stirring, and the solution was stirred overnight at room temperature. The solution was then dialyzed and freeze-dried to obtain the triblock copolymer Polyamine-*b*-PEO-*b*-PLE.

**Modification of AFM tips.** Epoxy-functionalized AFM tips for the covalent attachment of polyamines were obtained by treating the  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -tip (Microlever, Veeco Instruments) with (3-glycidyloxypropyl)trimethoxysilane for 30 s, rinsing with toluene and water for three times. Afterwards the polymers were immediately attached to the AFM tip by soaking it in an aqueous solution of Polyamine-*b*-PEO-*b*-PLE (concentration 0.25 mg/ml) for 90 minutes. After rinsing with water, the modified tip was dried with nitrogen.

**AFM desorption experiments.** In desorption experiments<sup>17,22–25</sup> single polymer chains covalently attached to the AFM tip are adsorbed on a solid surface and afterwards successively desorbed by separating tip and surface. When the tip is approaching the bare surface, polymers will adsorb onto it. When retracting the AFM tip the molecules successively desorb from the surface. Thereby desorption takes place under equilibrium



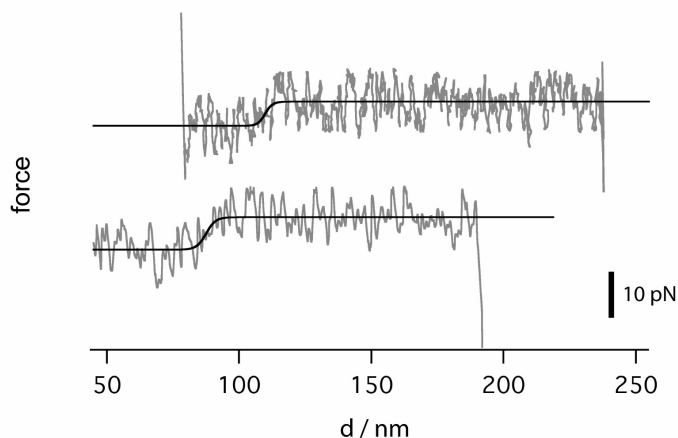


**Figure 3.** Illustration of a typical single molecule desorption experiment with polymer chains covalently attached to the tip of an AFM cantilever.

The AFM desorption measurements were conducted with a home-build instrument. Nominal spring constants of the cantilevers were calibrated using the thermal oscillation method. Due to the fact that the calculated spring constants may have deviations of up to 10%, a single tip was used for an entire set of measurement series for being able to monitor minute force differences. Thereby, every measurement series consists of 750-1000 force-distance curves. As a consequence, the binding of the polymers to the tip had to be very robust as with every tip on the order of 20000 force-distance curves had to be recorded. The usage of a polyamine-block for attaching the molecules to the tip proved to be highly efficient and long-term stable due to the multiple binding sites.

The covalent attachment of the block copolymer PEO<sub>273</sub>-*b*-PLE<sub>819</sub> to the AFM tip allows for studying the interaction of both the PEO and the PLE with the calcite surface in a single experiment. Figure 4 shows a force plateau as obtained by continuously desorbing the block copolymer from the calcite (104) face in an aqueous solution with 10 mM CaCl<sub>2</sub>. It may be important to point out that due to the attachment of the polymer to the AFM tip via the amine functions, first the PEO block is desorbed and then the PLE block (see Figures 2 & 3). This means that at distances larger than the contour length of the PEO<sub>273</sub> (~100 nm) the measured desorption force exclusively originates from the desorption of PLE monomers.

The interaction force of the PLE is slightly higher than that of PEO, as qualitatively expected, because PEO is supposed not to adsorb strongly onto a calcite crystal.<sup>30</sup> This is reflected by a sharp transition in force at a distance, which coincides with the contour length of the PEO<sub>273</sub> block ( $\sim 100$  nm). Note that in Figure 4 the desorption of a single PEO-*b*-PLE polymer can be seen, whereas the staircase like pattern in Figure 3 arises from the desorption of several polymer chains. In the curve presented in Figure 3 the force transition between the two blocks as shown in Figure 4 is not visible as it is generally only rarely observed. This is first of all because PEO often does not adsorb on the calcite surface as was shown in desorption experiments with Polyamine-*b*-PEO<sub>273</sub> on calcite (data not shown). However, if a desorption plateau was observed, the desorption force equals the values as found for the PEO in the block copolymer. The finding of rare desorption events but still “high” desorption force has already been reported in the literature before for the adsorption of poly(acrylic acid) on self-assembled monolayers.<sup>23</sup> In addition to the reduced PEO adsorption, the “unspecific” peak at small distances in the force-extension curves often extends to the distance regime where the force transition is expected and therefore covers the force transition. This is in particular true when several polymers are adsorbed to the surface and/or the transition distance is shifted to shorter lengths due to the attachment point of the polymer on the curved AFM tip. Moreover, as soon as several polymers are desorbed in parallel, intramolecular interactions also contribute, smearing out the force transition such that it is not detectable any more.

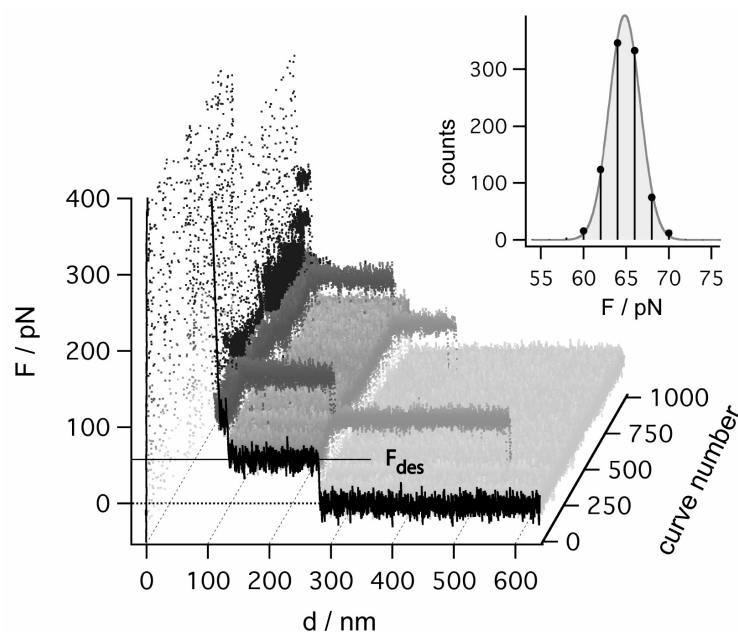


**Figure 4.** Two force versus distance curves of PEO-*b*-PLE obtained upon successive desorption from the calcite (104) surface. At a distance of about 100 nm the transition from desorbing ethylene oxide monomers to glutamate monomers can be seen. If the transition occurs at distances smaller than 100 nm this is most probably due to the attachment point of the polymer at the curved AFM tip. The force regime is about 60 pN, the difference in force about 5 pN.

The strength of single molecule desorption measurements, namely the measurement of interaction forces with high precision and the possibility to resolve minute force differences

is illustrated in Figure 5. Therein a series of force-distance curves is shown, in which the same PEO-*b*-PLE molecule was probed over a thousand times. Calcite (104) was used as solid surface. In the case of occasional contribution of a second chain two plateaus can be seen in the spectra. The force transition between the two blocks is not observed here as the unspecific adsorption peak at small distances exceeds the transition regime.

The mean desorption force of the glutamic acid with the calcite crystal is obtained by a statistical analysis of the plateau force of all curves that exhibit plateaus longer than 200 nm. In this case the PEO block with its contour length of 100 nm is not able to alter the interaction of the PLE with the calcite surface. The resulting force histogram is shown in the inset of Figure 5. A typical value for the full width at half maximum (fwhm) is 6 pN, thus the quantification of the mean desorption forces is possible with a precision of 1-2 pN.



**Figure 5.** Measurement series consisting of 1000 force-distance curves (10 mM  $\text{CaCl}_2$ , pH 6). Note that only plateaus originating from desorption of PLE can be seen here because the unspecific adsorption peak at small distances hides desorption of PEO. In all curves the same molecule is probed. In addition from time to time a second molecule participates. The mean interaction force is obtained via statistical analysis of the plateau forces (see inset). A typical value for fwhm of the force histograms is 6 pN.

**Calcite crystals.** Calcite (104) was provided by R. U. Barz (Institut für Mineralogie, LMU München) as well as crystallized by Y. Luo (MPI-KG). In the desorption measurements no differences in the desorption forces were found for the different samples. Calcite (100) was purchased from MTI Corporation (Richmond, USA).

The Calcite (104) surface and (100) surface both consist of alternating Ca-atoms and CO<sub>3</sub>-groups. Differences between the two crystal faces exist in the distance of neighboring Ca-CO<sub>3</sub> and the orientation of CO<sub>3</sub>-groups (see Supporting Information, Figures SI-5 and SI-6). However, calcite surfaces are not atomically flat in solution and can reform in solution by etch pits or dissolution-recrystallization. Even stable (104) cleavage planes reconstruct in moist air through pit formation and film growth.<sup>31</sup>

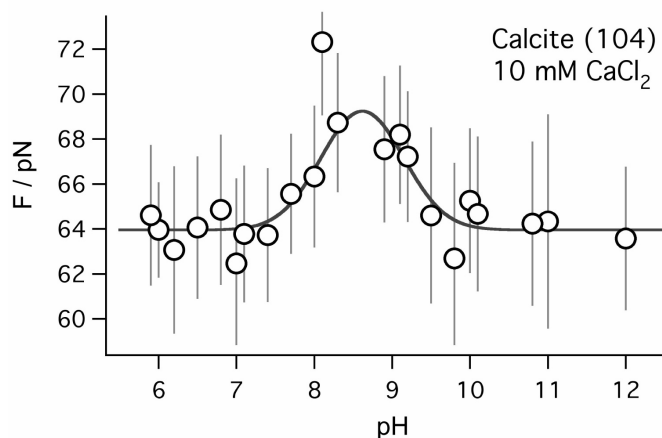
**Control measurements with poly(L-glutamic acid)** Poly(L-glutamic acid) was obtained from Sigma-Aldrich as sodium salt with a molar mass of 750-5000 g/mol (CAS Number 26247-79-0). Due to the broad molar mass distribution, mass/volume was chosen as the polymer concentration unit instead of molar concentration to have a constant number of monomer units independent of the polymer molar mass. A 1 mg/ml polymer solution was titrated with 10 mM CaCl<sub>2</sub> solution (see Supporting Information, Figure SI-3).  $\zeta$ -potentials were determined with a Zetasizer (Malvern Instruments). Added CaCl<sub>2</sub> concentrations were chosen for a Ca<sup>2+</sup> saturated polyanion solution on basis of the CaCl<sub>2</sub> titration results (see Supporting Information, Figure SI-4).

## Results and Discussion

**pH-dependent interaction forces between PLE and calcite (104).** The crystallization process in presence of polymeric additives is strongly dependent on the experimental conditions like pH or ionic strength of the solution. This was empirically demonstrated for BaSO<sub>4</sub> which has the advantage of a single polymorph with constant morphology over a wide range of pH and experimental conditions. However, the crystal morphologies could be varied to a large extent by different polymer additives<sup>32</sup> and different pH conditions – especially for polycarboxylates.<sup>33</sup> A general correlation between pH-variation and crystal morphology could not be established so far.

Desorption measurements were conducted in aqueous 10 mM CaCl<sub>2</sub> solution at varying pH between 6 and 12 and the mean desorption forces between PLE and calcite (104) were analyzed (see Figure 6). Thereby, the same mean desorption force of ca. 64 pN was obtained for pH 6 and pH 11 and a slight increase of ca. 4 pN was visible around pH 8.6. This maximum position of the desorption force in Figure 6 corresponds to the literature documented point of zero charge (pzc), which was reported to be between pH 8.2 and 9.5.<sup>34,35</sup> Therefore, at pH > 10 the calcite surface and the PLE are expected to be negatively charged resulting in a repulsive electrostatic contribution to the desorption force. As the pK<sub>a</sub> of the PLE is < pH 6<sup>36</sup> an electrostatic attraction between the positively charged calcite surface<sup>37–40</sup> and the negatively charged polymer should be expected at pH 6 - 8 resulting in the highest desorption force in absence of Ca<sup>2+</sup>. However, this is clearly not observed in Figure 6 as our experiments were conducted in an excess of 10 mM Ca<sup>2+</sup> and more importantly, the desorption force stays constant below pH 7 and above





**Figure 6.** Mean desorption forces in dependence of the pH of the aqueous  $\text{CaCl}_2$  solution. Each circle represents an independent measurement series as shown in Figure 3. Error bars represent the fwhm of the force histograms. An increased force is observed only between pH 8 and 9. In that regime, the calcite point of zero charge (pzc) is expected.

pH 10.

Based on the interaction forces between PLE and calcite (104) in dependence of the salt concentration of the aqueous solution (see further below, Figure 7) some additional comments can be given on the pH-dependent interaction forces. First, when screening all electrostatic interactions between polymer and calcite surface at high salt concentrations, the desorption force equals the desorption force found at pH 8 – 9. One can therefore conclude that no electrostatic interactions are contributing to the overall desorption force in this regime. Second, when decreasing the salt concentration (increasing electrostatic interactions) at pH 6, the desorption force drops down. That is, the electrostatic interaction between polymer and surface is repulsive. From the shape of the curve in Figure 6 one would then conclude that the electrostatic interaction at pH > 9 is repulsive, too. However, note that due to the small force differences as obtained as a function of the pH, electrostatic interaction are supposed to be weak. This corresponds either to a weakly charged polymer, a weakly charged surface or both.

It is known that complexation of  $\text{Ca}^{2+}$  and polymers bearing carboxylic groups can occur as a function of the accessible carboxylate functions<sup>41,42</sup> introducing positive charges into the side chains. We have therefore looked at the  $\text{Ca}^{2+}$  binding of PLE at the relevant pH values by titration experiments and found the expected higher  $\text{Ca}^{2+}$  binding at higher pH as compared to the lower pH (see Supporting Information). Electrokinetic measurements further showed that the  $\zeta$ -potential of poly(L-glutamic acid) saturated with  $\text{Ca}^{2+}$  in solution is still negative (–10 mV at pH 6 and –35 mV at pH 11), but considerably less negative than that of the polymer itself (–65 mV) (see Supporting Information). Reason for this is the partial neutralization of the polymer due to the  $\text{Ca}^{2+}$  coordination. Nevert-

heless, a further shift of the  $\zeta$ -potential occurs upon addition of a large excess of  $\text{Ca}^{2+}$ , from  $-35$  mV to  $-20$  mV at pH 11 (see Figure SI-4).

The  $\text{Ca}^{2+}$  coordination to carbonate groups can be expected in a similar manner as to the polymer carboxyl groups, which leads to the repulsion of a polymer with pH-dependent negative charge from an almost neutral crystal surface. This could be an explanation for the repulsive components yielding the reduced desorption force observed at  $\text{pH} > 10$ .

At the pzc, one expects an equal distribution of calcium and carbonate ions at the surface. When decreasing the pH from  $\text{pH} > 10$  to pzc, the calcite surface becomes more and more uncharged and with it the electrostatic repulsion between PLE and calcite less and less pronounced. As a consequence, the measured desorption forces rise in that pH regime. For  $\text{pH} < \text{pzc}$  the electrostatic interaction between PLE and calcite is repulsive again, such that the maximum of the desorption force in Figure 6 reflects the pzc of the calcite surface.

The observed results for the desorption force at  $\text{pH} < 8$ , namely a weak electrostatic repulsion between PLE and calcite, were the most unexpected findings of the pH-dependent measurements. At this pH ( $\text{pH} < \text{pzc}$ ) the calcite surface has to be expected as  $\text{Ca}^{2+}$  terminated, but the polymer will still be neutral to slightly negatively charged (see above). In other words, even in presence of  $\text{Ca}^{2+}$  in solution a marginal higher desorption force than at  $\text{pH} = \text{pzc}$  would be expected. However, this conclusion is drawn from a separate consideration of the properties of the polymer and calcite surface, but not as a whole. In agreement to our findings for  $\text{pH} < 8$ , namely that the polymer interacts with a seemingly negatively charged calcite surface at  $\text{pH} < \text{pzc}$ , Seitz et al. found an attractive/repulsive electrostatic interactions between poly(vinyl amine)/poly(acrylic acid) and calcite in NaCl solution at pH 6. This also corresponded to a seemingly negatively charged calcite surface.<sup>17</sup>

When comparing desorption measurement series in dependence of the pH, qualitative differences in adsorption behavior were observed. At  $\text{pH} > 10$  the probability of observing desorption events in the force-extension spectra is decreased (e.g. the consecutive observation of a thousand desorption plateaus as shown in Figure 3 is extremely unlikely), which is also reflected in the smaller number of data points in this pH regime in Figure 6. That is, for PLE molecules adsorption on the calcite surface is less favorable at  $\text{pH} > 10$  than at  $\text{pH} < 8$ . These different adsorption characteristics may also be regarded as a hint that the mechanisms that result in the repulsion between PLE and calcite are different for the two pH regimes. For  $\text{pH} > 10$ , PLE and calcite are similarly charged and therefore experience “real” electrostatic repulsion, which may act as an adsorption barrier. For  $\text{pH} < 8$ , PLE and calcite are expected to be oppositely charged so that adsorption may be advantageous. In this case one would have to conclude that the measured electrostatic repulsive force is induced by the adsorption of the PLE on the calcite surface.  $\zeta$ -potentials indicate further  $\text{Ca}^{2+}$  coordination by the polymer at  $\text{Ca}^{2+}$  excess, which would be expected near the calcite surface under the conditions at  $\text{pH} < \text{pzc}$ .

In general, the properties of surface adsorbed polyelectrolytes can be significantly changed with respect to the same molecules in solution, e.g. the dissociation equilibrium can vary upon adsorption.<sup>43–45</sup> Such effects may be even more pronounced at dielectric boundaries due to image charge interactions, which are for example opposing at low dielectric surfaces.<sup>46,47</sup> In particular, charge reversal has been predicted for semiflexible polyelectrolytes on charged planar surfaces.<sup>48,49</sup>

Our findings reveal that the simple epitaxial or even electrostatic view on polymer-crystal interactions is too simplified to explain the experimental findings and that quantitative AFM force spectroscopy can yield atomic details of the additive interaction with a crystal surface in a quantitative manner. Moreover, they point out the ability of this technique to monitor even small differences in molecular properties arising from the adsorption of polyelectrolyte molecules on charged surfaces. However, further experiments will be needed to elucidate the detailed individual contributions of the polymer upon interaction with a crystal surface.

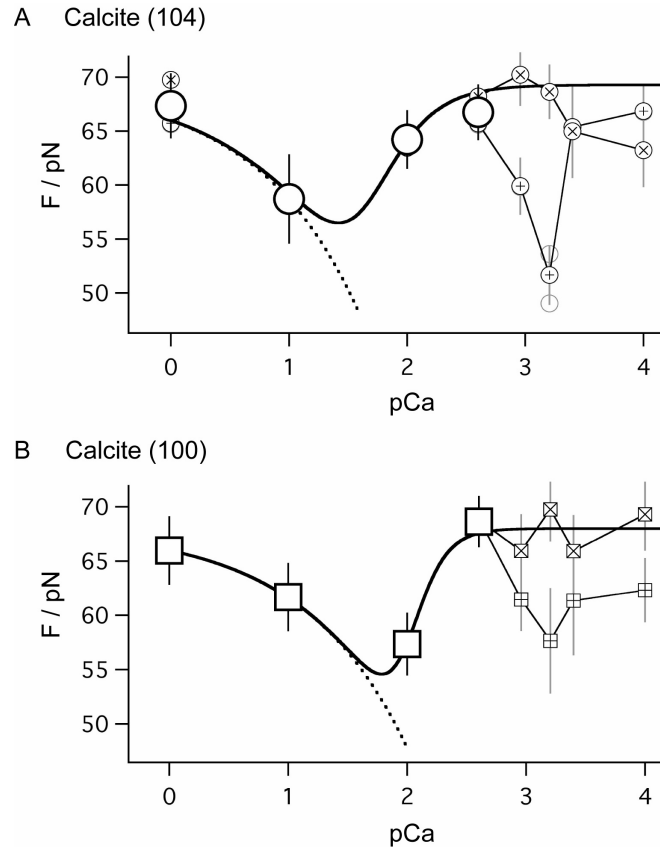
#### **pCa-dependent interaction forces between PLE and calcite (104) / calcite (100)**

Concluded from the above results, the synthesis of biomimetic materials on the basis of calcium carbonates may further be crucially dependent on the calcium concentration. Among the polymer-crystal interactions, electrostatic ones should be most affected by a variation of the ionic strength of the solution. The importance of electrostatic interactions was recently pointed out by Volkmer et al., who found that the charge density of an organic template layer is of importance for tuning the  $\text{CaCO}_3$  crystallization process with respect to polymorph selection and crystal orientation under monolayers.<sup>50</sup>

Desorption experiments were performed at pH 6 of an aqueous solution containing between 0.1 mM and 1 M  $\text{CaCl}_2$ . The corresponding mean desorption forces plotted versus  $\text{pCa} = -\log_{10}[\text{Ca}]$ , with  $[\text{Ca}]$  being the concentration of  $\text{Ca}^{2+}$  ions in solution, are shown in Figure 7 for two very similar calcite faces: (104) and (100). For both surfaces a similar behavior and force differences smaller than 10 pN were observed. It was found that the desorption forces are highly reproducible at salt concentrations  $0 < \text{pCa} < 2.5$  and non-reproducible at  $\text{pCa} > 2.5$  (see Figure 7).

For interpretation of the findings, two salt dependent contributions to the desorption force have to be considered: electrostatic screening and polymer charge density.<sup>17</sup> In Debye-Hückel-approximation the electrostatic contribution to the desorption force is proportional to the surface potential  $\sigma$ , the Debye screening length  $\kappa^{-1}$  ( $\propto [\text{Ca}]^{-0.5}$ ) and the linear (polymer) charge density  $\tau$ :  $F_{el} \propto \sigma \cdot \kappa^{-1} \cdot \tau$ . The desorption force then consists of a non-Coulomb contribution  $F_0$  and the electrostatic desorption force  $F_{el}$ . The experimental data were therefore fit by the following formula:  $F_{des} = F_0 + \alpha \cdot \sigma \cdot \tau \cdot [\text{Ca}]^{-0.5}$  with  $\alpha$  being a constant and  $[\text{Ca}]$  the fit variable. The surface potential  $\sigma$  was also regarded as constant.

At high salt concentrations the polymer is maximal charged ( $\tau = 1$ ) and the desorption



**Figure 7.** Mean desorption forces in dependence of Ca-concentration in solution ( $pCa = -\log_{10}[Ca]$ ) for A) calcite (104) and B) calcite (100) at pH 6. Two independent measurement series as shown in Figure 3 were performed at every  $pCa$  value (small symbols). In the regime  $pCa < 2.5$  the measured desorption forces are highly reproducible; large symbols represent weighted averages of the two data points. Data points were fit by  $F = F_0 + \alpha \cdot \sigma \cdot \tau \cdot [Ca]^{-0.5}$  with  $\alpha = \text{const.}$ , the surface potential  $\sigma = \text{const.}$  and the polymer charge density  $\tau$ . For  $\tau = 1$  (dotted curve) the fit function shows the dependence of the desorption force on electrostatic screening (Debye screening length  $\kappa^{-1} \propto [Ca]^{-0.5}$ ); a variable charge density due to e.g. charge regulation mechanisms was modeled with a titration behavior,  $\tau = 1/(1 + \exp[(pCa - pD)/t])$  (solid line).

force is a function of the ionic strength of the solution. However,  $\tau = 1$  does not correspond to a fully charged PLE polymer under the given experimental conditions because of  $Ca^{2+}$  complexation (see above). At  $pCa = 0$  electrostatic interactions between polymer and surface are almost completely screened, i.e.  $F_{des} \approx F_0$ . When decreasing the calcium concentration to  $pCa = 1$ , the PLE is still charged ( $\tau = 1$ ) but electrostatic interactions with the calcite are less screened and not negligible any more, i.e.  $F_{el} \neq 0$ . In this regime of “high” ionic strengths, the desorption force decreases proportional to the Debye screening length (dotted lines in Figure 7). This means that a repulsive interaction,  $F_{el} < 0$ , between PLE and calcite surface has to be assumed at pH 6! It may be interesting to

note that the ratio of the fitted surface potentials  $\sigma_{104}/\sigma_{100} = 1.7$  is of the same order of magnitude as the ratio of the density of ions at the surface (number of ions divided by the surface area, see also Supporting Information),  $\rho_{104}/\rho_{100} = 2.1$ . This may be interpreted as a hint that the differences in the measured desorption force between the two crystal surfaces are caused by different electrostatic interactions.

With decreasing salt concentrations, a phenomenon known as charge regulation has to be taken into account.<sup>49,51</sup> The charge density of all objects with dissociable groups as for example weak polyelectrolytes is a function of the salt concentration due to repulsive charge interactions within the polymer. These intramolecular repulsions counter the dissociation reaction of the carboxylic groups of the poly(L-glutamic acid). As electrostatic interactions are stronger at low salt concentrations (less screening), charge regulation is more pronounced, too. Thus, the polymer charge density decreases with decreasing salt concentration. Using the same argument, the charge density of a surface adsorbed polymer is furthermore altered by the surface charges and vice versa.

In order to fit the experimental data the polymer charge density was modeled with a titration behavior in dependence of pCa ( $\tau = 1/(1+\exp[(\text{pCa}-\text{pD})/t])$ , solid lines in Figure 7). Deflection points of the titration functions were found to be at  $\text{pD}_{104} = 1.6$  for the calcite (104) and at  $\text{pD}_{100} = 2.0$  for the calcite (100) surface. This finding is in qualitative agreement with the surface charge densities of the calcite surfaces. The larger charge density of the calcite (104) surface in comparison to the calcite (100) surface leads to a reduction of the polymer charge already at higher salt concentrations, i.e. lower pCa values.

The desorption forces in the non-reproducible regime at low salt concentrations ( $\text{pCa} \approx 3$ ) are dependent on the AFM tip, i.e. the set of molecules. This may again be correlated with the complexation of  $\text{Ca}^{2+}$  ions by the PLE polymer. Due to the attachment process of the triblock polymer to the AFM tip, the number of bound polymer chains cannot be controlled and is not known as generally much more polymers are bound to the tip than seen in the experiments (e.g. because of the tip's curvature). Thus, the degree of  $\text{Ca}^{2+}$  complexation at low salt concentrations, when the number of carboxylic groups in the PLE polymers is comparable to the number of available  $\text{Ca}^{2+}$  ions in solution, may depend on the used AFM tip. However, the effect may also be caused by the calcite surface itself as in electrophoretic mobility studies a variation of the  $\zeta$ -potential of calcite (104) was observed at a similar salt concentration.<sup>34</sup>

The results on the two calcite faces (104) and (100) shown in Figure 7 indicate that the desorption forces are delicately dependent on electrostatic interactions. It is a remarkable observation that significant differences of the desorption forces could be detected for the structurally similar calcite faces (see e.g.  $\text{pCa} = 2$  in Figure 7).

## Conclusions

In polymer controlled crystallization processes small variations on the molecular level can result in large morphological effects on the macroscopic level. We quantitatively investigated the molecular forces between poly(L-glutamic acid) and calcite on the single molecule level and showed that a variation of pH and calcium concentration of the solution as well as a variation of the crystal face led to variations of the interaction forces of comparable strength. The observations underline that a complex interplay of molecular interactions has to be assumed for polypeptide-mineral-systems. We demonstrated that quantitative AFM-based desorption measurements are able to enlighten this interplay on the basis of the molecular interaction forces with very high precision although the nature of the detected interactions is not yet clear in all cases. In particular, this approach should also be able to give insight into the dynamics of crystal growth in the presence of polymers as it involves not only the adsorption, but also the (transient) desorption and conformational rearrangements of polymer chains at the mineral surface. This could help to correlate molecular interactions and conformations with macroscopic crystal properties and thus to control the crystallization and materials properties.

**Acknowledgment.** Helpful discussions with Dr. Paul Bowen (EPFL, Lausanne), Prof. Lennart Bergström (University of Stockholm), Prof. Thomas Vilgis (MPI Mainz) and Prof. Roland Netz (TU München) are gratefully acknowledged. We thank Margit Barth (MPI-KG) for the assistance with the  $\text{CaCl}_2$  titrations of poly(L-glutamic acid) and Heidi Zastrow (MPI-KG) for  $\zeta$ -potential measurements. This work was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (grants CO 194/1-1, SE 888/3-1 and SFB 486) and the Fonds der chemischen Industrie.

**Supporting Information Available:** Polymer synthesis ( $^1\text{H}$  NMR, SEC), titration of poly(L-glutamic acid) with  $\text{CaCl}_2$  at different pH,  $\zeta$ -potential measurements of poly(L-glutamic acid), and illustrations of calcite (104) and (100) surfaces. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

## References

- (1) Mann, S. *Biom mineralization: Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*; Oxford University Press: New York, 2001.
- (2) Lowenstam, H. A.; Weiner, S. *On Biom mineralization*; Oxford University Press: New York, 1989.
- (3) Simkiss, K.; Wilbur, K. M. *Biom mineralization: cell biology and mineral deposition*; Academic Press: San Diego, 1989.
- (4) Wheeler, A. P.; Sikes, C. S.; Williams, R. J. P., Ed.; VCH: Weinheim, 1989, p 95.
- (5) Gotliv, B. A.; Kessler, N.; Sumerel, J. L.; Morse, D. E.; Tuross, N.; Addadi, L.;

- Weiner, S. *ChemBioChem* **2005**, 6, 304-314.
- (6) Weiner, S. *Calcif. Tissue Int.* **1979**, 29, 163-167.
- (7) Wheeler, A. P.; Low, K. C.; Sikes, S.; Wheeler, A. P., Ed.; American Chemical Society: Washington DC, 1991, p 72.
- (8) Xu, A. W.; Ma, Y. R.; Cölfen, H. *J. Mater. Chem.* **2007**, 17, 415-449.
- (9) Cölfen, H. *Top. Curr. Chem.* **2007**, 271, 1-77.
- (10) Cölfen, H. *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, 22, 219-252.
- (11) Yu, S. H.; Cölfen, H. *J. Mater. Chem.* **2004**, 14, 2124-2147.
- (12) Addadi, L.; Berkovitchyellin, Z.; Weissbuch, I.; Vanmil, J.; Shimon, L. J. W.; Lahav, M.; Leiserowitz, L. *Angew. Chem. - Int. Ed.* **1985**, 24, 466-485.
- (13) Addadi, L.; Weiner, S. *Angew. Chem. - Int. Ed.* **1992**, 31, 153-169.
- (14) Shi, W. Y.; Wang, F. Y.; Xia, M. Z.; Lei, W.; Zhang, S. G. *Acta Chim. Sinica* **2006**, 64, 1817-1823.
- (15) Wang, T. X.; Reinecke, A.; Cölfen, H. *Langmuir* **2006**, 22, 8986-8994.
- (16) Cölfen, H.; Antonietti, M. *Angew. Chem. - Int. Ed.* **2005**, 44, 5576-5591.
- (17) Seitz, M.; Friedsam, C.; Jöstl, W.; Hugel, T.; Gaub, H. E. *ChemPhysChem* **2003**, 4, 986-990.
- (18) Smith, B. L.; Schaffer, T. E.; Viani, M.; Thompson, J. B.; Frederick, N. A.; Kindt, J.; Belcher, A.; Stucky, G. D.; Morse, D. E.; Hansma, P. K. *Nature* **1999**, 399, 761-763.
- (19) Kataoka, K.; Harada, A.; Nagasaki, Y. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, 47, 113-131.
- (20) Justynska, J.; Hordyjewicz, Z.; Schlaad, H. *Polymer* **2005**, 46, 12057-12064.
- (21) ISOICHEM. French Patent EP 1 201 659 A1, 2002.
- (22) Hugel, T.; Grosholz, M.; Clausen-Schaumann, H.; Pfau, A.; Gaub, H.; Seitz, M. *Macromolecules* **2001**, 34, 1039-1047.
- (23) Friedsam, C.; Becares, A. D.; Jonas, U.; Seitz, M.; Gaub, H. E. *New J. Phys.* **2004**, 6, 9.
- (24) Cui, S. X.; Liu, C. J.; Wang, Z. Q.; Zhang, X. *Macromolecules* **2004**, 37, 946-953.
- (25) Chatellier, X.; Senden, T. J.; Joanny, J. F.; di Meglio, J. M. *Europhys. Lett.* **1998**, 41, 303-308.
- (26) Kühner, F.; Erdmann, M.; Sonnenberg, L.; Serr, A.; Morfill, J.; Gaub, H. E. *Langmuir* **2006**, 22, 11180-11186.
- (27) Hugel, T.; Seitz, M. *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, 22, 989-1016.
- (28) Sonnenberg, L.; Parvole, J.; Kühner, F.; Billon, L.; Gaub, H. E. *Langmuir* **2007**, 23, 6660-6666.
- (29) Sonnenberg, L.; Parvole, J.; Borisov, O.; Billon, L.; Gaub, H. E.; Seitz, M. *Macromolecules* **2006**, 39, 281-288.
- (30) Cölfen, H.; Qi, L. M. *Chem.-Eur. J.* **2001**, 7, 106-116.
- (31) Kendall, T. A.; Martin, S. T. *J. Phys. Chem. A* **2007**, 111, 505-514.
- (32) Qi, L. M.; Cölfen, H.; Antonietti, M. *Angew. Chem.-Int. Ed.* **2000**, 39, 604.

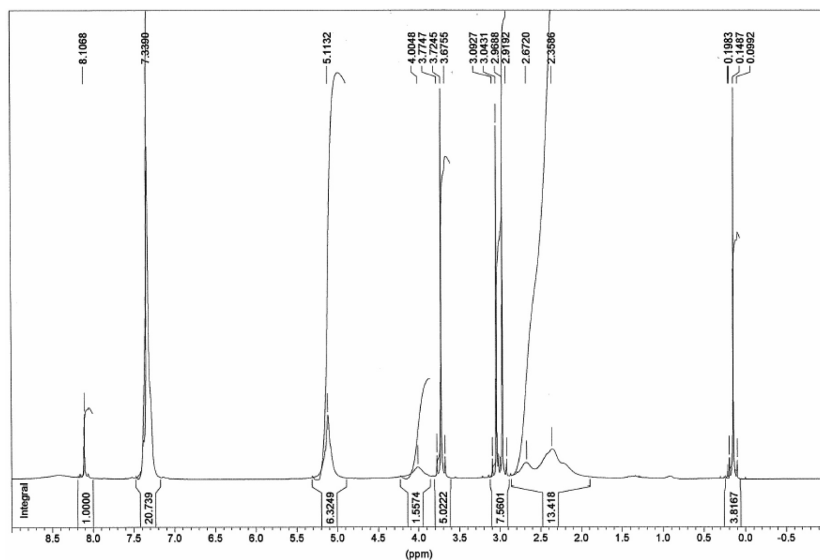
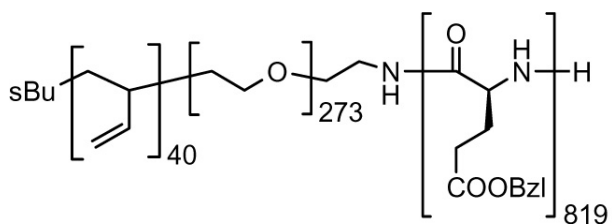
- (33) Qi, L. M.; Cölfen, H.; Antonietti, M. *Chem. Mater.* **2000**, 12, 2392-2403.
- (34) Moulin, P.; Roques, H. *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, 261, 115-126.
- (35) Churchill, H.; Teng, H.; Hazen, R. M. *Am. Mineral.* **2004**, 89, 1048-1055.
- (36) Schlaad, H. *Adv. Polym. Sci.* **2006**, 202, 53-73.
- (37) Vancappellen, P.; Charlet, L.; Stumm, W.; Wersin, P. *Geochim. Cosmochim. Acta* **1993**, 57, 3505-3518.
- (38) Fenter, P.; Geissbuhler, P.; DiMasi, E.; Srajer, G.; Sorensen, L. B.; Sturchio, N. C. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2000**, 64, 1221-1228.
- (39) Pokrovsky, O. S.; Mielczarski, J. A.; Barres, O.; Schott, J. *Langmuir* **2000**, 16, 2677-2688.
- (40) Lin, Y. P.; Singer, P. C. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2005**, 69, 4495-4504.
- (41) Madsen, F.; Peppas, N. A. *Biomaterials* **1999**, 20, 1701-1708.
- (41) Kriwet, B.; Kissel, T. *Int. J. Pharm.* **1996**, 127, 135-145.
- (43) Burke, S. E.; Barrett, C. J. *Langmuir* **2003**, 19, 3297-3303.
- (44) Sukhishvili, S. A.; Granick, S. *Langmuir* **2003**, 19, 1980-1983.
- (45) Xie, A. F.; Granick, S. *Nat. Mater.* **2002**, 1, 129-133.
- (46) Netz, R. R. *J. Phys.: Condens. Matter* **2003**, 15, S239-S244.
- (47) Netz, R. R. *Phys. Rev. E* **1999**, 60, 3174-3182.
- (48) Netz, R. R.; Joanny, J. F. *Macromolecules* **1999**, 32, 9013-9025.
- (49) Boroudjerdi, H.; Kim, Y. W.; Naji, A.; Netz, R. R.; Schlagberger, X.; Serr, A. *Phys. Rep.* **2005**, 416, 129-199.
- (50) Volkmer, D.; Fricke, M.; Agena, C.; Mattay, J. *J. Mater. Chem.* **2004**, 14, 2249-2259.
- (51) Friedsam, C.; Gaub, H. E.; Netz, R. R. *Europhys. Lett.* **2005**, 72, 844-850.



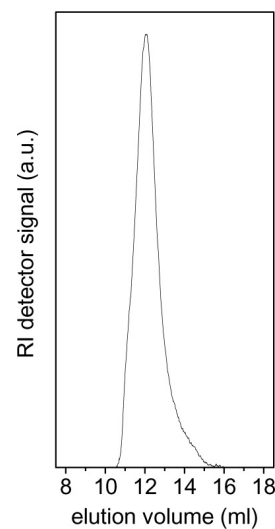
## Supporting Information

## Polymer synthesis

Polybutadiene-*block*-poly(ethylene oxide)-*block*-poly( $\gamma$ -benzyl L-glutamate) (PB-*b*-PEO-*b*-PBLE):

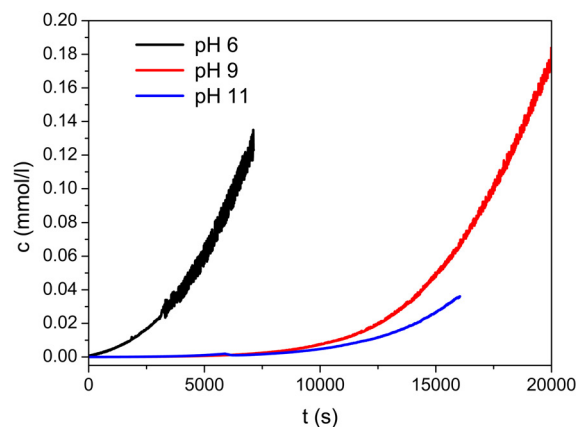


**Figure SI-1.**  $^1\text{H}$  NMR spectrum (400.1 MHz, solvent:  $\text{DMF-d}_7$ ) of PB-*b*-PEO-*b*-PBLE.



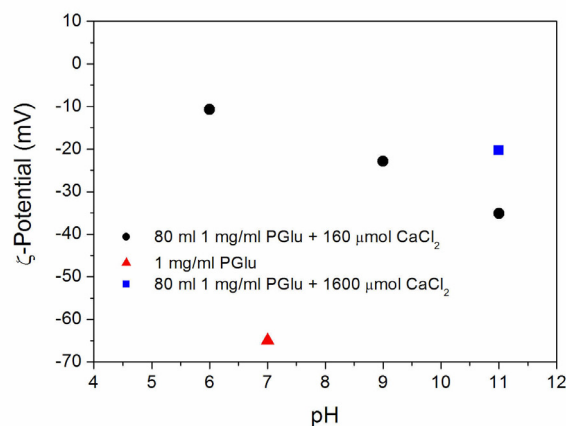
**Figure SI-2.** Size-exclusion chromatogram (eluent: THF) of PB-*b*-PEO-*b*-PBLE.

### Titration of poly(L-glutamic acid) with $\text{CaCl}_2$



**Figure SI-3.** Titration of 80 ml of a 1 mg/ml solution of poly(L-glutamic acid) sodium salt with 10 mM  $\text{CaCl}_2$  at different pH. The titration speed of the  $\text{CaCl}_2$  solution was 4 ml/h. The y-axis displays the  $\text{Ca}^{2+}$  concentration in solution measured by a  $\text{Ca}^{2+}$  sensitive electrode. It is clearly evident that the polymer binds more  $\text{Ca}^{2+}$  at higher pH.

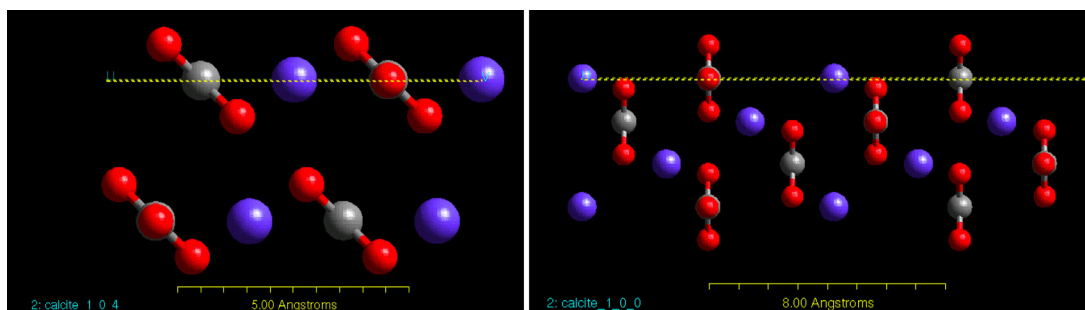
### Zeta-potential measurements of poly(L-glutamic acid)



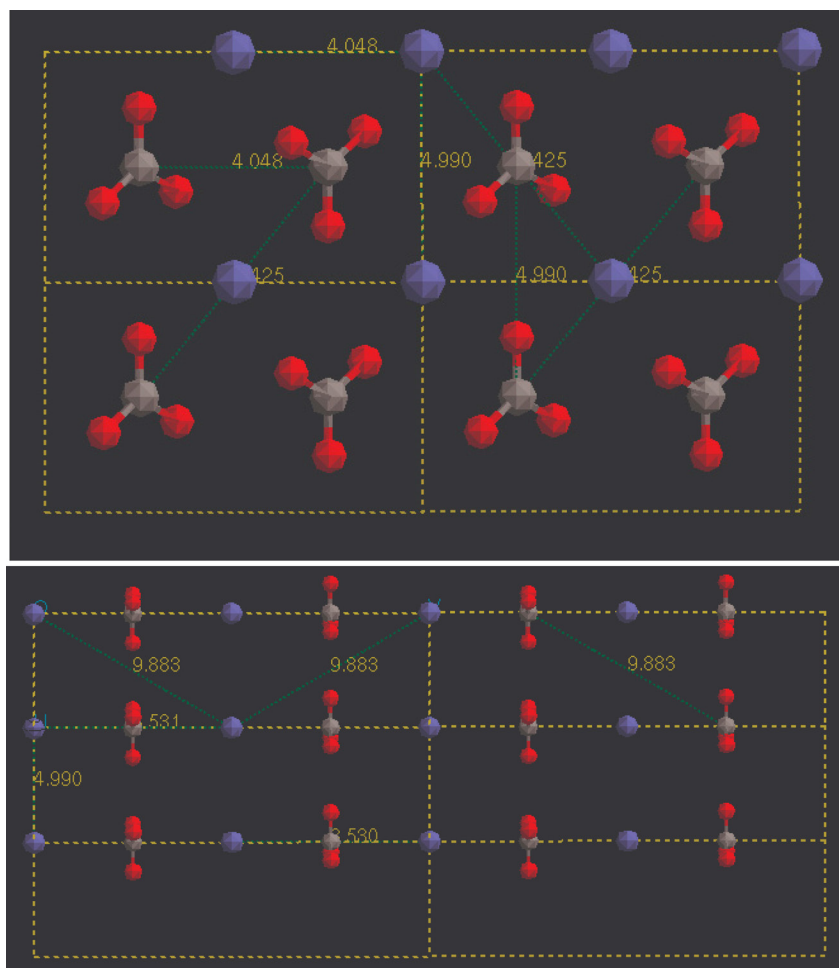
**Figure SI-4.**  $\zeta$ -potential of a poly(L-glutamic acid) sodium salt solution with added  $\text{CaCl}_2$  solution at different pH values. 160  $\mu\text{mol}$   $\text{CaCl}_2$  correspond to 14400 s in Figure SI-3, where at all pH, excess  $\text{Ca}^{2+}$  is already found in solution. Nevertheless, addition of a large excess of  $\text{Ca}^{2+}$  (1600  $\mu\text{mol}$ ) gives a less negative  $\zeta$ -potential than for 160  $\mu\text{mol}$   $\text{CaCl}_2$ . The dashed line at  $-65$  mV indicates the reference of the pure polymer solution.

## Calcite surfaces

Side view:

**Figure SI-5.** Calcite surface cuts; left: calcite (104), right: calcite (100).

Top view:

**Figure SI-6.** Unit cells of the calcite surfaces; top: calcite (104), bottom: calcite (100).



## E Novel Method for Generation of Additive-Free High Energy Crystal Faces and their Reconstruction in Solution

Yufei Luo, Lars Sonnenberg and Helmut Cölfen

**Abstract** Additive-free high-energy faces of  $\text{CaCO}_3$  in the calcite modification were synthesized and found to reconstruct fast into the stable (104) faces in solution within two hours, which is not observed in the bad solvent ethanol. (104) faces can be detected by single molecule force spectroscopy. A novel embedding process of calcite crystals with defined exposed surfaces generated on a self-assembled surfactant monolayer into a silica monolith is described as well as the time resolved analysis of the reconstruction of unstabilized high-energy surfaces which is faster than assumed from the equilibrium Wulff rule.

Crystal engineering is of great importance in science and industry as the properties of crystalline systems depend on their morphology. According to Wulff's rule,<sup>1</sup> the thermodynamic prediction of the crystal morphology is the minimum of the sum of the products between surface area and surface energy for the different faces of a crystal. Crystal faces with low surface energy therefore get exposed in the equilibrium morphology.

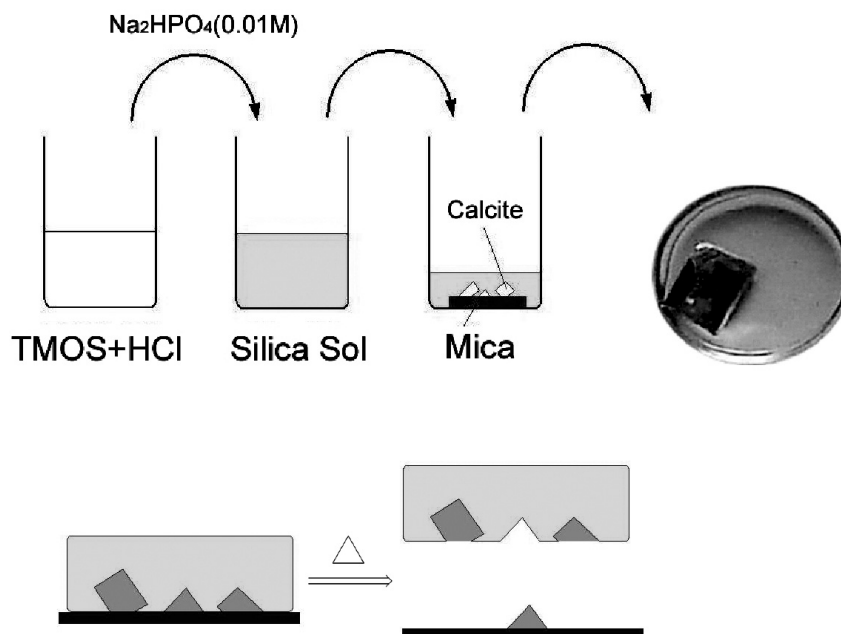
In order to change the morphology of a crystal by changing the surface energy of selected crystal faces, a large variety of additives or templates can be applied including polymers,<sup>2</sup> monolayers,<sup>3–9</sup> low molar mass substances<sup>10</sup> or even simple ions.<sup>11</sup> However, for some applications, pure crystal surfaces are needed, which are not covered by an additive. If they have a high surface energy, these surfaces should not be stable according to Wulff's rule and get reconstructed to the equilibrium morphology. It was therefore the aim of this work to synthesize additive free high energy crystal surfaces and to investigate, in how far, and how fast non-stabilized high-energy crystal faces undergo reconstruction in solution systems. We chose calcium carbonate ( $\text{CaCO}_3$ ) due to its great scientific and industrial importance.<sup>12,13</sup> For this crystal system, stabilized high-energy faces are frequently found like for example the (001) face in the biomineral aragonite.<sup>14</sup> The stable calcite polymorph has a typical rhombohedral equilibrium shape exposing six (104) faces. Therefore, we can expect to detect possible surface reconstruction effects of high-energy surfaces by means of surface sensitive scanning techniques like scanning force microscopy (SFM).

We synthesized different calcite high-energy surfaces on self-assembled monolayers (SAM) of  $\text{HS}(\text{CH}_2)_{15}\text{COOH}$  (Aldrich, 90%) on silver coated mica by literature reported methods.<sup>15</sup> The monolayers were formed by exposing the silver coated surfaces to a 10 mM solution of the thiol in ethanol for 24 h, followed by washing with ethanol and distilled water. The substrates were then stuck on supports and placed upside-down in 10 mM  $\text{CaCl}_2$  solution in a closed desiccator containing vials of  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ . To minimize contamination of the SAMs, the substrates were placed into the  $\text{CaCl}_2$  solution immediately after they were taken out of the thiol solution. The vials with  $\text{CaCl}_2$  and  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  were closed with parafilm and three needle holes were punched into the film. Experiments were carried out at room temperature for 24h. Small calcite crystals about 0.1-0.5 mm in diameter were then formed on the surfaces.

We then embedded the calcite crystals on the surface into a silica monolith. In a 25 ml beaker, tetramethylorthosilicate (TMOS, 10 g) and deionized water (2 g) were mixed and  $\text{HCl}$  (0.01 M, 0.6 ml) was added to catalyze the reaction. After sonicating the reaction mixture for 20 min, the silica sol was formed. The sonicated sol (1 ml) was mixed with  $\text{Na}_2\text{HPO}_3$  (1 ml, 0.01 M, pH 6.0) and afterwards, the mica chip with the calcite crystals was put into the beaker with the calcite crystals facing the sol. The samples were aged and dried for 1 week. Afterwards, they were calcined at  $400^\circ\text{C}$  in an oven for 4 hours to remove the thiol. Thermogravimetry (data not shown) shows that already after 20 min of a 20 K/min heating ramp, 89% of the thiol is removed at  $400^\circ\text{C}$ . After this treatment, the mica chip could be easily removed from the silica monolith with the now embedded calcite crystals. These calcite crystals now expose their triangular high energy surfaces (001) & (012) at the monolith surface and were used for the further investigations. The whole process is illustrated in Fig. 1.

The identification of the high-energy calcite surfaces in the silica monolith was carried out via their interface angles. Identification of crystal faces by their interfacial angles may become a difficult issue when the crystal under consideration is viewed under an angle differing from  $90^\circ$  with respect to the surface to be identified. In such case, the determined interfacial angles will be different from their true values. However, this problem was clearly circumvented by the strategy of embedding the calcite crystals grown in oriented fashion on a self assembled monolayer (SAM) into a silica monolith, which after complete removal of the organics (by thermal treatment) ensures that the crystal faces are viewed exactly from their previous contact side with the SAM.

Therefore, the exposed calcite surfaces could be identified by the angles between the faces using light microscopy (Olympus BX 41 optical microscope equipped with a digital camera Olympus Camedia C-5060, 5.1 Megapixel and polarization filters). For the (012) faces, the ideal angles are  $51.95^\circ$ ,  $76.11^\circ$  and  $51.95^\circ$ . For the (001) face, they are all  $60^\circ$  as determined by calculations using Cerius2 (Accelrys). These high-energy surfaces can either expose only  $\text{Ca}^{2+}$  or  $\text{CO}_3^{2-}$  on the surface (Fig. 2, computer calculations of the surfaces). As a test, the freshly prepared surfaces were immersed in a solution of 0.01 M

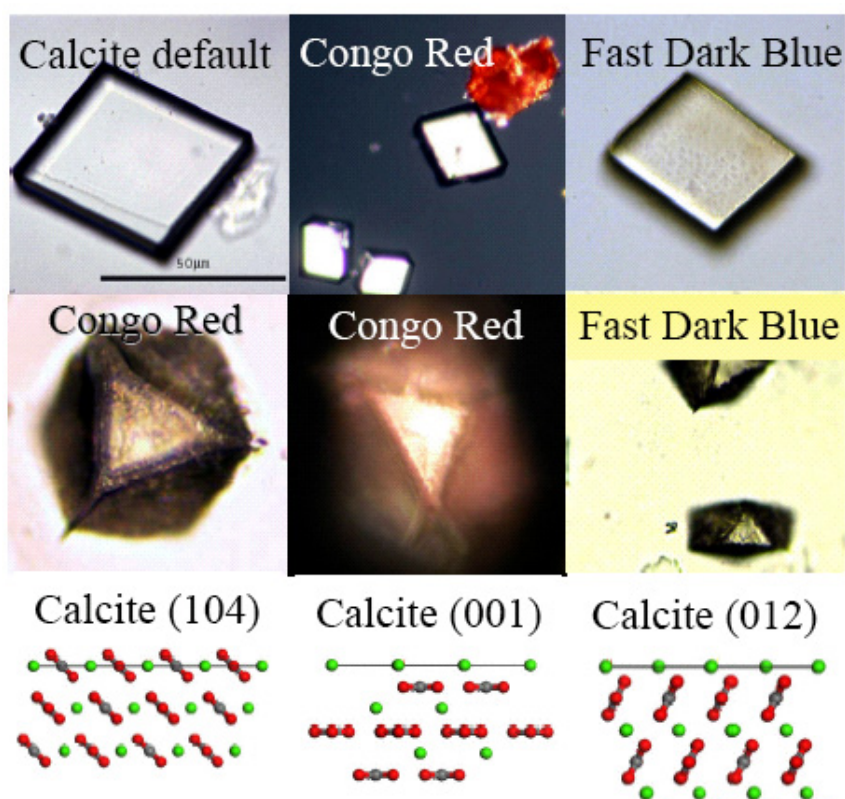


**Figure 1.** The embedding of calcite crystals with exposed high energy surfaces on a self assembled monolayer into a silica monolith.

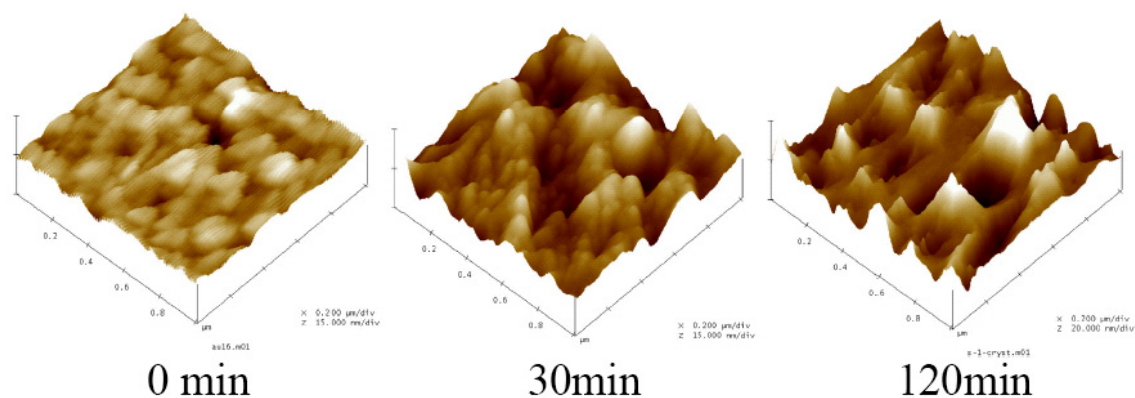
Congo Red or Fast Dark Blue dyes for 4 hours. The high-energy (001) and (012) surfaces turned out to be cationic as was shown by the adsorption of the anionic dye Congo Red; the cationic dye Fast Dark Blue did not adsorb (see Fig. 2). The calcite rhomboeder exposing six neutral (104) faces could not be stained, as expected.

Both (001) and (012) are high-energy surfaces because they are the most polar calcite surfaces. A surface reconstruction can therefore be expected from the thermodynamic viewpoint in the absence of surface stabilizing additives. When the (012) surfaces were put into deionized water for different times and analyzed by SFM (Multimode AFM, Veeco Instruments; Tapping mode in a Veeco Instruments solution cell), the surface reconstruction became obvious (Fig. 3). The mean roughness of the surfaces at the start of the experiment is 1.1 nm. It was found that after 30 minutes the mean roughness became 5.7 nm and that after 2 hours the surfaces were very rough and exhibited peaks composed of (104) surfaces (Fig. 3, surface roughness 95 nm).

The (104) surfaces were evidenced by single-molecule force spectroscopy with a poly(glutamic acid)-*block*-poly(ethylene oxide) copolymer attached to the tip (Home-build SFM using silicon nitride cantilevers; Microlever, Veeco Instruments). Adhesion forces of the polymer molecules on different solid substrates can so be measured with high precision.<sup>16,17</sup> Briefly, the tip is brought into contact with the calcite crystal and the molecules are allowed to adsorb on the surface. When retracting the cantilever the polymer molecules desorb successively from the surface in an equilibrium process resulting in a plateau of constant force in the force-extension spectra. The statistical analysis of these



**Figure 2.** Staining of different calcite crystal surfaces with anionic Congo Red and cationic Fast Dark Blue dyes. Upper row: (104), Center row: Left: (001), Center (012), Right (012); Lower row. Atomar display of the different calcite surfaces.



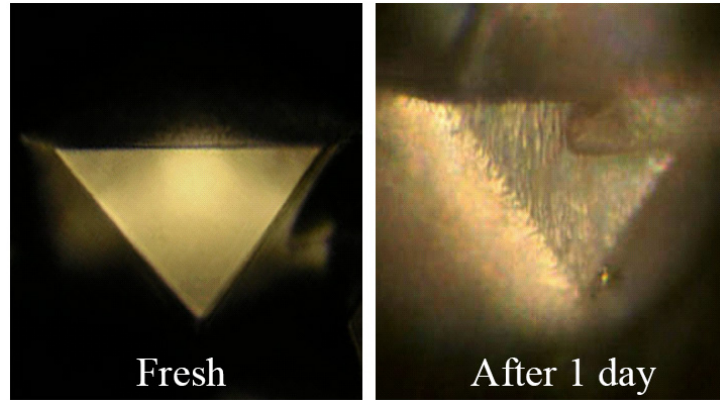
**Figure 3.** Time-dependent SFM-imaging of calcite (012) surfaces ( $1 \times 1 \mu\text{m}^2$ ).

plateau forces leads to the mean adhesion force of the polymer on the surface. Adhesion forces for poly(glutamic acid) on different calcite faces in aqueous solution containing 10 mM  $\text{CaCl}_2$  were investigated: 65 pN (104), 66 pN (012) and 58 pN (100). The



given forces are the averages of two measurement series, each including 750 – 1000 force-extension curves. Each measurement series was done on (104), (100) & (012) using the same AFM tip to maximize the accuracy of the measurements (this avoids the ca. 10% uncertainty for the forces, which is generated by cantilever calibration). The well-defined force histograms as obtained with this type of measurements allow for the determination of the adhesion forces with a precision of ca. 2 pN.<sup>18</sup>

The measured adhesion forces can therefore be regarded equal for the (104) and (012) surface, while a difference was observed for the (100) face. In principle, for a cationic (012) face a higher adhesion force is expected meaning that the (012) has to have transformed into a crystal face which is more similar to (104) than the (100) plane. This supports that the (012) surface reconstructs into a (104) face under the given experimental conditions. The reconstruction of the (012) to the (104) faces is so significant, that it becomes even visible in a light microscope (Fig. 4). This result clearly shows that the (012) surfaces are not stable in water and are reconstructed to (104) faces forming calcite rhombohedra already within two hours. The same result was obtained, when the (012) surfaces were exposed to saturated  $\text{CaCO}_3$ . This is supportive of a dissolution-recrystallization mechanism rather than an etching process, which could lead to similar surface morphologies.



**Figure 4.** *Surface reconstruction of a calcite (012) surface observed with polarized light microscopy.*

Our data are in qualitative agreement with the literature reported dynamic nature of calcite surfaces. Even on the stable (104) faces, the formation of holes and hillocks of up to 10 calcite monolayers was observed on freshly cleaved faces in presence of moisture<sup>19</sup> and very recently the calcite (104) surface reconstruction in moist air was suggested to lead to islands of hydrated  $\text{CaCO}_3$ .<sup>20</sup> A small 0.06 nm calcite surface reconstruction was also observed by rotation of a part of the carbonate groups around the C-O bond axis.<sup>21</sup> However, other investigations reported no reconstruction of calcite (104) in moisture.<sup>22</sup> The above literature results on calcite (104) reconstruction suggest that the reconstruction we observed for (001) and (012) is a dissolution-recrystallization process rather than

an etching process, which is supported by the observation that the surface reconstruction also takes place in saturated  $\text{CaCO}_3$ . To test the role of a good solvent, we performed the same measurements as shown in Fig. 4 for the high-energy surfaces in absolute ethanol (a poor solvent). Here, the surface did not change over the time period of 1 day (data not shown), demonstrating that the reconstruction process is indeed mediated by a good solvent (Etching as well as dissolution-recrystallization process). Further support comes from the finding that the surfaces were stable for a long time when kept in a dry environment.

In summary, we presented a novel method to prepare defined additive free high energy calcite faces. In addition, we could reveal that high energy calcite surfaces cannot exist in solution of a good solvent if they are not stabilized by additives. Instead, they get reconstructed within two hours to form stable (104) faces, which could be evidenced by single molecule force spectroscopy as a method, which is sensitively able to distinguish between different crystal faces. Whether the surfaces reconstruct via etching or dissolution-recrystallization can not unequivocally be stated but the fact that the surface transformation is also observed in saturated  $\text{CaCO}_3$  solution supports the dissolution-recrystallization mechanism. Surfaces are stable and do not reconstruct when kept in dry environment or in a bad solvent.

Our results have impact on crystal design in general and can be expected to be quite universally valid. Crystals with high-energy surfaces, which can be generated by kinetic crystallization pathways cannot be kept in a solvent for a long time because their surfaces will get reconstructed. The construction of the equilibrium morphology is a relatively fast process, although the Wulff construction is an equilibrium consideration. This points towards the need for surface stabilization of high-energy surfaces, which is the only reason, why such faces can be observed at all in biominerals and synthetic crystals formed in the presence of additives.

**Acknowledgment** We thank Helmut Schlaad for helpful discussions and the Max Planck Society as well as the German Research Foundation DFG (grants CO 194/1-1 and SE 888/3-1) for financial support. Anne Heilig is acknowledged for the time resolved SFM measurements.

## References

- (1) Wulff, G., *Z. Krystallogr.* **1901**, 34, 449-530.
- (2) Yu, S. H.; Cölfen, H., *J. Mater. Chem.* **2004**, 14, 2124-2147.
- (3) Mann, S.; Archibald, D. D.; Didymus, J. M.; Douglas, T.; Heywood, B. R.; Meldrum, F. C.; Reeves, N. J., *Science* **1993**, (261), 1286-1292.
- (4) Heywood, B. R., *Chem. Mater.* **1994**, 6, 311-318.
- (5) Berman, A.; Ahn, D. J.; Lio, A.; Salmaeron, M.; Reichert, A.; Charych, D., *Science*

- 1995, 269, 515-518.
- (6) Berman, A.; Charych, D., *J. Cryst. Growth* **1999**, (198-199), 796-801.
  - (7) Aizenberg, J.; Black, A. J.; Whitesides, G. M., *Nature* **1999**, 398, 495-498.
  - (8) Han, Y.-J.; Aizenberg, J., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 3668-3670.
  - (9) Travaille, A. M.; Kaptijn, L.; Verwer, P.; Hulsken, B.; Elemans, J. A. A. W.; Nolte, R. J. M.; van Kempen, H., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11571-11577.
  - (10) Mann, S.; Didymus, J. M.; Sanderson, N. P.; Aso-Samper, E. J.; Heywood, B. R., *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1* **1990**, 86, 1873-1880.
  - (11) Titiloye, J. O.; Parker, S. C.; Osguthorpe, D. J.; Mann, S., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 20, 1494-1496.
  - (12) Meldrum, F. C., *Int. Mater. Rev.* **2003**, 48, 187-224.
  - (13) Cölfen, H., *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2003**, 8, 23-31.
  - (14) Falini, G.; Albeck, S.; Weiner, S.; Addadi, L., *Science* **1996**, 271, 67-69.
  - (15) Aizenberg, J.; Black, A. J.; Whitesides, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 4500-4509.
  - (16) Hugel, T.; Seitz, M., *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, 22, 989-1016.
  - (17) Seitz, M.; Friedsam, C.; Jöstl, W.; Hugel, T.; Gaub, H. E., *ChemPhysChem* **2003**, 4, 986-990.
  - (18) Sonnenberg, L.; Parvole, J.; Kühner, F.; Billon, L.; Gaub, H. E., *Langmuir* **2007**, 23, 6660-6666.
  - (19) Stipp, S. L. S.; Gutmannsbauer, W.; Lehmann, T., *Amer. Mineralog.* **1996**, 81, 1-8.
  - (20) Kendall, T. A.; Martin, S. T., *J. Phys. Chem. A* **2007**, 111, 505-514.
  - (21) Jin, M. X.; Shimada, E.; Ikuma, Y., *J. Ceram. Soc. Jap.* **1999**, 107, 1166-1170.
  - (22) Magdans, U.; Gies, H.; Torrelles, X.; Rius, J., *Eur. J. Mineral.* **2006**, 18, 83-91.

# Danksagung

Mein Dank gilt Prof. Hermann Gaub für die Möglichkeit meine Dissertation in seiner Gruppe (Gambicrew) an der LMU unter exzellenten Arbeitsbedingungen angefertigt haben zu können. In den zahlreichen wissenschaftlichen Diskussionen und durch die weitreichenden Gestaltungsfreiheiten konnte ich viel lernen und neue Einblicke in die Forschungslandschaft gewinnen.

Herzlich bedanken möchte ich mich ebenfalls bei Dr. Markus Seitz, der nicht nur die interessanten Projekte der Biomineralisation und der gepfropften Polymere initiiert hat, sondern auch nach Verlassen seiner Universitätslaufbahn stets bereit war, die Projekte weiterzuverfolgen und mich zu unterstützen.

Prof. Roland Netz danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Für die hervorragende Zusammenarbeit und die zahlreichen Diskussionen rund um die Biomineralisation danke ich Dr. Helmut Cölfen und Dr. Helmut Schlaad. Yufei Luo danke ich für die Synthese der Blockcopolymere, die Herstellung der Hochenergiekristallflächen und die Beantwortung der vielen kleinen Fragen.

Mein Dank geht ebenso nach Frankreich an Dr. Laurent Billon und Dr. Oleg Borisov, zum einen für die vielen Diskussionen in Bezug auf gepfropfte Polymere, zum anderen für die informative und angenehme Zeit in Pau im Rahmen des DAAD Procope Austauschprojekts. Dr. Julien Parvole danke ich für die Synthese der Polymermonolagen, sowie deren chemische Charakterisierung.

Bei Prof. Thorsten Hugel möchte ich mich für die vielen Diskussionen und hilfreichen Tipps rund um die Desorptionsmessungen bedanken.

Ferner haben auch alle Mitglieder der Gambicrew, die mir durch Diskussionen, Ratschläge, tatkräftige Unterstützung oder die nette Atmosphäre am Lehrstuhl geholfen haben, ein großes Dankeschön verdient.

Meinem Gegenüber Stefan Kufer danke ich für das Korrekturlesen und die vielen privaten und wissenschaftlichen Diskussionen. Ebenfalls danke ich dem Polymerreibungsteam Ferdinand Kühner und Matthias Erdmann für Diskussionen. Matthias danke ich darüber hinaus für das Korrekturlesen der Arbeit. Weiterhin danke ich meinem Werkstudenten Lorenz Rognoni für die Hilfe beim Aufbau und Testen des AFM, Angelika Kardinal für die Herstellung der DNA-Proben und Martin Benoit für die Unterstützung beim AFM-Basteln.

Allen voran möchte ich mich aber herzlich bei Barbara für die uneingeschränkte Unterstützung und die vielen schönen gemeinsamen Momente bedanken. Meinen Eltern und meiner Oma danke ich für die Unterstützung während des gesamten Studiums. Mein Dank gilt auch Wolfgang und Maria für das Interesse an meiner Arbeit und das Korrekturlesen. Schlussendlich danke ich noch Moritz, dass ich nicht immer alleine ins Institut radeln musste.